

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İDİYOPATİK JENERALİZE EPİLEPSİ TANISI ALAN OLGULARIN YENİ
NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE GENETİK ETİYOLOJİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ENGİN ATLI

DOKTORA TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Hakan GÜRKAN

EDİRNE-2021

Engin ATLI'nın hazırladığı "**İDİYOPATİK JENERALİZE EPİLEPSİ TANISI ALAN OLGULARIN YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE GENETİK ETİYOLOJİSİNİN ARAŞTIRILMASI**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Prof. Dr. Hakan GÜRKAN

.....

Doç. Dr. Jülide TOZKIR

.....

Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA

.....

Prof. Dr. Sevilhan ARTAN

.....

Prof. Dr. Munis DÜNDAR

.....

Tez Savunma Tarihi: 25/03/2021

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Hakan GÜRKAN

Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

25/ 03/ 2021

Engin ATLI

Doktora Tezi

İdiyopatik Jeneralize Epilepsi Tanısı Alan Olguların Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Genetik Etiyolojisinin Araştırılması

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Epilepsi, en sık gözlenen kronik nörolojik hastalıklardan birisidir ve epileptik nöbetler oluşturmak için kalıcı yatkınlıkla karakterize bir grup beyin hastalığıdır. Epilepsinin her bir çeşidinin altında yatan beyin fonksiyon bozukluğunu yansıtan çok sayıda nedeni vardır. İdiyopatik epilepsiler içinde, idiyopatik jeneralize epilepsiler, iyi bilinen ve yaygın olarak gözlenen bir gruptur. Genomik teknolojilerin uygulanması, epilepsinin genetik temelini keşfedilmesinde muazzam bir etkiye sahiptir ve epilepsinin tanı ve tedavisinde çok önemli rol oynaması beklenmektedir.

Çalışmamıza idiyopatik jeneralize epilepsi ile ilişkili olduğu düşünülen toplam 18 gen (*CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA2*, *CLCN2*, *GABRA1*, *GABR2*, *GABRD*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN9A*, *EFHC1*, *SLC2A1*, *SLC4A10*, *TBC1D24*) dahil edildi. Bu genlere özgü tasarlanan primerler ile oluşturulan panel kullanılarak yeni nesil dizi analizi (NGS) teknolojisiyle hastaların genetik etiyolojisi araştırıldı.

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Nöroloji Anabilim Dalı Polikliniği'nden idiyopatik jeneralize epilepsi tanısı ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne gönderilen 32 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 32 hastadan JENGs-32 numaralı hastanın nörolojik muayenesinde, Marfan Sendromu şüphesi nedeniyle hastanın bu yönde klinik takibine karar verildi.

Çalışmamıza dahil edilen 32 hastada ACMG-2015 kriterlerine göre, birinde olası patojenik (*SCN1A* geninde bir varyant) ve 8'inde klinik önemi belirsiz (2 tane *CLCN2*

geninde varyasyon, 2 tane *TBC1D24* varyasyonu ve *GABBR2*, *SCN1B*, *SLC2A1*, *SLC4A10* genlerinde birer varyasyon) olmak üzere 9 (%28) varyasyon saptandı.

Bir hastamızda *SCN1A* geninde heterozigot, c.560G>A, p.(Arg187Gln) varyasyonu saptandı. Bu varyasyon ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre “Olası Patojenik” olarak değerlendirildi. Varyasyona ait segregasyon analizi sonucunda, ilgili varyasyonun babadan (paternal) aktarılmış olduğu saptandı. Hastanın klinik ve fenotipik bilgileri tekrar incelendiğinde bu varyasyon açısından ileri fonksiyonel çalışmalar ile bulgumuzun desteklenmesi gerektiği sonucuna varıldı. İki hastamızda ise *CLCN2* geninde ‘Klinik önemi bilinmeyen’ olarak değerlendirilen c.2481T>G, p.(Ile827Met) ve c.1603A>G, p.(Met535Val) varyasyonları saptandı. Her iki varyasyon için de sırasıyla paternal ve maternal olmak üzere ailesel aktarım söz konusuydu. Hastalar değerlendirme formlarına göre tekrar incelendiğinde ilgili varyasyonların patojenik etkisi olmadığı görüşüne varıldı.

İdiyopatik epilepsilerde çoğunlukla kompleks kalıtım rol oynamaktadır. Kompleks kalıtımda genler ile çevresel faktörlerin etkileşimi görülmektedir. Ayrıca idiyopatik epilepsinin alt gruplarını oluşturan epilepsi sendromlarının hepsinde genetik heterojenite görülmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, idiyopatik jeneralize epilepsi hastalarının genetik etiyolojisini araştırmak amacıyla özgün tasarlanmış olan hedefe yönelik çoklu gen panelimizin, panelin gen içeriğinin artırılarak ve örneklem sayısının çoğaltılması ile klinik tanıya önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

Yıl : 2021

Sayfa Sayısı : 117

Anahtar Kelimeler : Epilepsi, İdiyopatik Jeneralize Epilepsi, Yeni Nesil Dizi Analizi,

Doctorate Thesis

The Investigation of the Genetic Etiology in Idiopathic Generalized Epileptic Disorders
by Next Generation Sequencing Technique

Trakya University Institute of Natural Sciences

Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Epilepsy is one of the most common chronic neurological diseases and is a group of brain diseases characterized by a permanent predisposition to cause epileptic seizures. Each type of epilepsy has multiple causes that reflect underlying brain dysfunction. Among idiopathic epilepsies, idiopathic generalized epilepsies are a well-known and widely observed group. The application of genomic technologies has a tremendous impact in the discovery of the genetic basis of epilepsy and is expected to play a very important role in the diagnosis and treatment of epilepsy.

A total of 18 genes thought to be related to idiopathic generalized epilepsy (*CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA2*, *CLCN2*, *GABRA1*, *GABR2*, *GABRD*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN9A*, *EFHC1B*, *SCN2A*, *SCN9A*, *EFHC4A1*) were included in our study. Genetic etiology of the patients was investigated with next generation sequencing (NGS) technology using a panel created with primers designed specifically for these genes. Thirty-two patients who were sent from Trakya University Health Research and Application Center, Department of Neurology Clinic to the Medical Genetics Department Genetic Diseases Diagnosis Center with the diagnosis of idiopathic generalized epilepsy were included in the study. In the neurological examination of patient numbered JENGs-32 among 32 patients included in the study, it was decided to follow up the patient in this direction due to the suspicion of Marfan Syndrome.

In 32 patients included in our study, according to ACMG-2015 criteria, one was likely pathogenic in one (a variant in the *SCN1A*) and the clinical significance was

uncertain in 8 (2 *CLCN2* variation, 2 *TBC1D24* variation and one variation in *GABBR2*, *SCN1B*, *SLC2A1*, *SLC4A10* genes) totally 9 (28%) variations were detected.

Heterozygous, c.560G>A,p.(Arg187Gln) variation was detected in the *SCN1A* gene in one of our patients. In the in silico analysis we performed in relation to this variation, it was evaluated as "Likely pathogenic" according to ACMG-2015 criteria. As a result of the segregation analysis of the variation, it was found that the relevant variation was inherited as paternal. When the clinical and phenotypic information of the patient were re-examined, it was concluded that this variation should be supported by advanced functional studies. In two of our patients, variations of c.2481T>G,p.(Ile827Met) and c.1603A>G,p.(Met535Val), evaluated as "uncertain clinical significance", were detected in the *CLCN2* gene. For both variations, there was familial inheritance, paternal and maternal, respectively. When the patients were re-examined according to the evaluation forms, it was concluded that the relevant variations had no pathogenic effect.

Complex inheritance often plays a role in idiopathic epilepsies. Interactions between genes and environmental factors are seen in complex inheritance. In addition, genetic heterogeneity is observed in all epilepsy syndromes that constitute subgroups of idiopathic epilepsy. According to the results of our study, we anticipate that our targeted multi-gene panel, which was designed specifically to investigate the genetic etiology of patients with idiopathic generalized epilepsy, will make significant contributions to clinical diagnosis by increasing the gene content of the panel and increasing the sample size.

Year : 2021

Number of Pages : 117

Keywords : Epilepsy, Idiopathic Generalized Epilepsy, Next Generation Sequencing

TEŞEKKÜR

Akademik hayatım süresince her konuda içten ve sonsuz desteğini esirgemeyen, gerek bizlere sağladığı huzurlu çalışma ortamı ile gerekse eğitim ve tez aşamasında bilgi birikim ve deneyimleriyle yol göstericim olan çok değerli hocam Prof. Dr. Hakan GÜRKAN'a saygı ve şükranlarımı sunarım. Her zaman desteklerini içtenlikle hissettiren ve esirgemeyen çok değerli çalışma arkadaşlarım sevgili Dr. Öğr. Üyesi Selma DEMİR, Dr. Öğr. Üyesi Sinem YALÇINTEPE ve Dr. Öğr. Gör. Yasemin ÖZEN'e teşekkürü bir borç bilirim. Bölümümüz Moleküler Genetik Biriminde aile sıcaklığı ile çalıştığım ve her türlü fedakarlığı içtenlikle gösteren sevgili Damla EKER, M. Can ŞAHİN, Dranusha ZHURİ, Hazal SEZGİNER GÜLER ve Fulya DÜŞENKALKAN arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler. Aynı zamanda bir ferdi olmaktan her zaman gurur ve mutluluk duyduğum Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ailesindeki tüm çalışma arkadaşlarıma desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz hastaları bizlere yönlendiren ve tezimin yapılabilmesinde emeği olan sayın Prof. Dr. Babürhan GÜLDİKEN hocama teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamıza katılan değerli olgularımız ve ebeveynlerine teşekkürlerimi iletirim.

Tüm hayatım boyunca iyiki evlatlarıyım dediğim kıymetlilerim anneme ve babama, canım ablama, kardeşime, bu süreçte destekleri ve emekleri için değerli kayınvalidem ve kayınpederime, sevgisini ve desteğini her zaman koşulsuz hissettiğim hayat ortağım yol arkadaşım biricik eşime, varlığı ile hayatımızı güzelleştiren ve en büyük yaşam kaynağımız canımız ALİN'imize teşekkür ederim.

Engin ATLI

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından 2020-09 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ ve AMAÇ	1
BÖLÜM 2	3
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsinin Tanımı.....	3
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Mekanizma/Patofizyoloji.....	4
2.4. Etiyoloji	5
2.5. Sınıflandırma	6
2.6. İdiyopatik Jeneralize Epilepsi.....	8
2.6.1. IJE'deki nöbetler.....	9
2.6.1.1. Tipik absans nöbetler	9
2.6.1.2. Miyoklonik nöbetler.....	10

2.6.1.3. Jeneralize tonik-klonik nöbetler	10
2.6.2. IJE’lerde gözlenen sendromlar	11
2.6.2.1. Çocukluk çağı absans epilepsisi.....	11
2.6.2.2. Juvenil absans epilepsi	11
2.6.2.3. Juvenil miyoklonik epilepsi (Janz sendromu).....	12
2.6.2.4. Sadece jeneralize tonik-klonik nöbetler ile seyreden IJE’ler.....	12
2.7. Epilepsi Genetiği	12
2.7.1. Genetik Epilepsilerin Sınıflandırılması	13
2.7.1.1. Mendel epilepsileri.....	13
2.7.1.2. Mendel dışı veya "karmaşık" epilepsiler	14
2.7.1.3. Kromozomal bozukluklar	14
2.7.2. Kanalopatiler.....	15
2.7.2.1. Ligand kapılı iyon kanalları	16
2.7.2.2. Voltaj kapılı iyon kanalları	17
2.7.2.3. Genetik Epilepsilerde İyon Kanalları.....	19
2.7.3. İdiyopatik Jeneralize Epilepsi Genetiği	20
2.8. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi	29
BÖLÜM 3	36
MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
BÖLÜM 4	52
BULGULAR.....	52
4.1. Klinik Bulgular	52
4.2. NGS Bulguları	57
BÖLÜM 5	65
TARTIŞMA	65
BÖLÜM 6	77

SONUÇ	77
KAYNAKLAR	78
BÖLÜM 8	89
EKLER.....	89
BÖLÜM 9	97
ÖZGEÇMİŞ	97



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1000G	: 1000 Genomes Project
AP	: Aksiyon potansiyeli
ARF6	: ADP-ribosylation factor 6
BAM	: Binary Alignment Map
BDE	: İyi huylu ailesel neonatal epilepsi
BFIS	: İyi huylu ailesel infantil nöbet
Ca²⁺	: Kalsiyum
CADD	: Combined Annotation Dependent Depletion
ÇÇAE	: Çocukluk çağı absans epilepsisi
CHRNA2	: Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide 2
CHRNA4	: Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide
CHRNA2	: Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Beta Polypeptide 2
CIC	: Klorür kanalları
CLCN2	: Chloride Channel 2
dbSNP	: Single Nucleotide Polymorphism Database
DNA	: Deoksiribonukleikasit
DS	: Dravet sendromu
E	: Eksitasyon
EEG	: Elektroensefalografi

EFHC1	: Ef-Hand Domain - C Terminal- Containing Protein 1
ESP	: Exome Sequencing Project
ExAC	: Exome Aggregation Consortium
EY	: Entellektüel yetersizlik
FIME	: Ailesel infantil miyoklonik epilepsi
GABA	: Gama-aminobütirik asit
GABAA	: G-aminobütirik asit reseptörü tip A
GABABR	: GABAB reseptörü
GABRA1	: Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-1
GABRA2	: Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-2
GABRD	: Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Delta
GEFS+	: Febril nöbet artı jeneralize epilepsi
GERP	: Genomic evolutionary rate profiling score
GJE	: Genetik Jeneralize Epilepsi
GLUT1	: Glukoz taşıyıcı 1
GLUT1-DS	: GLUT1 eksikliği sendromu
GPCR	: G-protein bağlı reseptör
GTCS	: Jeneralize tonik klonik nöbet
GWAS	: Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
HCL	: Hidroklorik Asit
HGMD	: Human Genom Mutation Database
HGNC	: HUGO Gene Nomenclature Committee
HT1	: Hibridizasyon Buffer

I	: İnhibisyon
ICE-GTS	: Tonik klonik nöbetle seyreden intraktabl çocukluk çağı epilepsisi
IGV	: Integrative Genomics Viewer- Broad Institute
IJE	: İdiyopatik jeneralize epilepsi
ILAE	: Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu
IVA	: Qiagen Ingenuity Variant Analysis
JAE	: Juvenil absans epilepsi
JME	: Juvenil miyoklonik epilepsi
JTKN	: Jeneralize tonik klonik nöbet
JTKN	: Sadece jeneralize tonik-klonik nöbet
K+	: Potasyum
KCNQ2	: Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily 2
KCNQ3	: Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily 3
KCNT1	: Potassium Channel, Subfamily T, Member 1
MAP	: Mikrotübül ilişkili protein
MN	: Miyoklonik nöbet
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
Na+	: Sodyum
nAChR	: Nöronal Nikotinik Reseptör
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NGS	: Yeni nesil dizi analizi
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
OSB	: Otizm spektrum bozukluğu

PolyPhen	: Polymorphism Phenotyping v2
QCI	: Qiagen Clinical Insight
SAM	: Sequence Alignment Map
SCN1A	: Sodium Channel, Neuronal Type I, Alpha Subunit
SCN1A-SMEI	: SCN1A ile ilişkili şiddetli miyoklonik epilepsi
SCN1B	: Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Beta Subunit
SCN2A	: Sodium Channel, Voltage-Gated, Type II, Alpha Subunit
SCN9A	: Sodium Channel, Voltage-Gated, Type IX, Alpha Subunit
SHIFT	: Sorting Intolerant From Tolerant
SLC2A1	: Solute Carrier Family 2-Facilitated Glucose Transporter 1
SLC4A10	: Solute Carrier Family 4-Sodium Bicarbonate, Member 10
TA	: Tipik absans nöbet
TBC	: Tre2-Bub2-Cdc16
TBC1D24	: Tbc1 Domain Family, Member 24
TLDC	: TBC/lysine motif domain/catalytic
UMI	: Unique Molecular Index
Vcf	: Variant Call Format
VUS	: Klinik önemi belirsiz variant

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 2017 yılı ILAE nöbet tiplerinin sınıflandırması	7
Şekil 2.2. 2017 yılı ILAE nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması	8
Şekil 2.3. Yıllara göre bilinen epilepsi genleri.	15
Şekil 2.4. Ligand kapılı iyon kanalları	167
Şekil 2.5. Voltaj kapılı sodyum kanal topolojisi.....	19
Şekil 3.1. Qiaseq hedefli DNA panellerinin iş akışı şeması	40
Şekil 3.2. NextSeq 550 sistemi	48
Şekil 4.1. NGS verileri biyoinformatik analizi iş akışı.....	58
Şekil 4.2. JENGs-2 numaralı hastada SLC2A1 geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü.....	62
Şekil 4.3. JENGs-15 numaralı hastada GABBR2 geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu.....	62
Şekil 4.4. JENGs-11 numaralı hastada CLCN2 geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu.....	63
Şekil 4.5. JENGs-29 numaralı hastada CLCN2 geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu.....	63
Şekil 4.6. JENGs-7 numaralı hastada SCN1A geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu.....	64
Şekil 4.7. JENGs-16 numaralı hastada SLC4A10 geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu.....	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Epilepsilerin etiyolojik sınıflandırması.....	7
Çizelge 2.2. Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları	31
Çizelge 2.3. Varyasyonlar için in siliko tahminleme araçları	32
Çizelge 3.1. Çalışılan genler ve transkript bilgileri	39
Çizelge 3.2. DNA Fragmentasyon PCR Protokolü.....	41
Çizelge 3.3. UMI ve indeksleme PCR karışımı hazırlanması.....	42
Çizelge 3.4. Hedef zenginleştirme reaksiyon karışımı hazırlanması	43
Çizelge 3.5. Hedef zenginleştirme PCR koşulları.....	44
Çizelge 3.6. Universal PCR Amplifikasyon Reaksiyon karışımı hazırlanması	45
Çizelge 3.7. Universal PCR Amplifikasyon Koşulları	45
Çizelge 3.8. SYBR Green PCR Mix Bileşenleri.....	46
Çizelge 3.9. Real-Time PCR Protokolü	47
Çizelge 3.10. Sarf Malzeme Listesi	50
Çizelge 3.11. Qiaseq (Hedefli Gen Paneli Yeni Nesil DNA Dizileme) Panel Komponentleri	50
Çizelge 3.12. Çalışmada Kullanılan Cihaz Listesi.....	51
Çizelge 4.1. Hasta grubundaki kişilere ilişkin yaş, hastalık başlangıç yaşı ve cinsiyet dağılımı	53
Çizelge 4.2. Çalışmaya dahil edilen hastalara ilişkin EEG bulguları, tıbbi kayıt bilgileri, akrabalık bilgileri, risk faktörleri	55
Çizelge 4.3. Hastalara ait epileptik nöbet tipi, IJE sendrom tipi ve son 1 yıldaki nöbet sıklığı bilgileri	56

Çizelge 4.4. Çalışmaya dahil edilen hastaların genotip ve aile segregasyon analizi sonuçları.....	59
Çizelge 4.5. Çalışmaya dahil edilen hastaların dbSNP kayıtları, ACMG skorları, ClinVar verileri ve patojenite bilgileri.....	60
Çizelge 4.6. Çalışmaya dahil edilen hastalarda saptanan varyasyonların genotip ve in siliko tahminleme skorları.....	61



BÖLÜM 1

GİRİŞ ve AMAÇ

İdiyopatik epilepsiler içinde, idiyopatik jeneralize epilepsiler (IJE), iyi bilinen ve yaygın olarak gözlenen bir gruptur. IJE nöbetleri, tipik absans nöbetler (TA), miyoklonik nöbetler (MN) ve jeneralize tonik klonik nöbetlerdir (JTKN). IJE’lerde gözlenen sendromlar, çocukluk çağı absans epilepsisi (ÇÇAE), juvenil absans epilepsy (JAE), juvenil miyoklonik epilepsi (JME, Janz sendromu) ve sadece jeneralize tonik-klonik nöbetler (JTKN) ile seyreden IJE’lerdir.

1995 yılında epilepsi ile ilişkili ilk genin tanımlanmasından bu yana, genomik teknolojiler, epilepsinin genetik temelini keşfedilmesinde muazzam bir etkiye sahiptir ve ilerleyen sureclerde epilepsinin tanı ve tedavisinde çok önemli rol oynaması beklenmektedir.

Çalışmamızda IJE tanılı 32 hastada, yeni nesil dizi analizi (NGS) yöntemi ile genetik etiyojinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla literatürde IJE ile ilişkili veya aday olduğu düşünülen, *CHRNA2* (Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide 2), *CHRNA4* (Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide), *CHRNA2* (Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Beta Polypeptide 2), *CLCN2* (Chloride Channel 2), *GABRA1* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-1; Gabra1), *GABRA2* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-2), *GABRD* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Delta), *KCNQ2* (Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily Member 2), *KCNQ3* (Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily Member 3), *KCNT1* (Potassium Channel, Subfamily T, Member 1), *SCN1A* (Sodium Channel, Neuronal Type I, Alpha Subunit), *SCN1B* (Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Beta Subunit), *SCN2A* (Sodium Channel, Voltage-Gated, Type

II, Alpha Subunit), *SCN9A* (Sodium Channel, Voltage-Gated, Type IX, Alpha Subunit), *EFHC1* (Ef-Hand Domain - C Terminal- Containing Protein 1), *SLC2A1* (Solute Carrier Family 2-Facilitated Glucose Transporter Member 1), *SLC4A10* (Solute Carrier Family 4-Sodium Bicarbonate Transporter-Like, Member 10), *TBC1D24* (Tbc1 Domain Family, Member 24) genlerini içeren NGS yöntemine özgün hedefli gen paneli tasarlandı.



BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi, epileptik nöbetler oluşturmak için kalıcı yatkınlıkla karakterize bir grup beyin hastalığıdır. Buna göre nöbetler, epilepsinin birincil semptomunu oluşturur (Perucca, Bahlo & Berkovic, 2020). Nöbet, beyindeki nöronların aşırı, hipersenkronize deşarjının neden olduğu nörolojik fonksiyonun paroksismal bir değişikliğidir (Stafstrom & Carmant, 2015). Epileptik nöbetler, kalıcı yatkınlıkla ilişkili olmayan izole olaylar olarak da ortaya çıkabilir ve bu nedenle bir nöbetin meydana gelmesi, mutlaka bir epilepsi teşhisi anlamına gelmeyebilir (Perucca vd., 2020). Epileptik nöbet terimi, anormal nöronal hareketliliğin neden olduğu bir nöbeti, psikojenik nöbet gibi epileptik olmayan olaydan ayırmak için kullanılır. Epilepsi tekrarlayan, provoke edilmemiş nöbetlerin durumudur. Epilepsinin her bir çeşidinin altta yatan beyin fonksiyon bozukluğunu yansıtan çok sayıda nedeni vardır. (Devinsky vd., 2018). Epilepsi tanısı, kronik bir arka plan süreci nedeniyle nöbet atakları tekrarlandığında yapılır (Fisher vd., 2014).

2.2. Epidemiyoloji

Epilepsi en sık gözlenen kronik nörolojik hastalıklardan birisidir ve her yaştan, ırktan, sosyal sınıftan ve coğrafi konumdan insanları etkiler. Epilepsi, nöbet oluşturmak için kalıcı bir yatkınlık ve nöbet nökslerinin nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçları ile karakterize bir beyin hastalığıdır (Fisher vd., 2005). İnsidans çalışmalarının sistematik bir derlemesinde ve meta-analizinde, epilepsi insidansı 100.000 kişi/yıl için 61.4 oranındadır (Fiest vd., 2017). İnsidans düşük/orta gelirli ülkelerde, yüksek gelirli

ülkelere göre daha yüksektir ve insidans oranı sırasıyla 100,000 kişi/yıl için 139 ve 48,9'dır (Beghi & Hesdorffer, 2014).

Türkiye için yapılan epilepsi insidans çalışmaları sınırlı sayıdadır. Ankara'da yapılan bir çalışmada nöbet sınıflaması çok net yapılmamakla birlikte, yaygınlık 1000'de 7,39 olarak saptanmıştır (Bilgin, 1980). İstanbul'un Silivri bölgesinde yapılan çalışmada ise yaygınlık 1000'de 10,2 olarak saptanmıştır (Karaagaç vd., 1999). Trabzonda 0-6 yaş arası çocuklarda yapılan çalışmada ise epilepsi prevalansı 1000'de 16,7 olarak tespit edilmiştir (Çan, Bölükbaşı & Torun, 1996). Türkiye'de 0-16 yaş arası çocukları içeren başka bir çalışmada epilepsi prevalansı %0,8 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada epilepsisi olan erkek çocuklarda epilepsi yaygınlık oranı 1000' de 9,5 ve kızlarda 1000'de 6,5 olarak tespit edilmiştir (Serdaroğlu vd., 2004). Türkiye'de epilepsi prevalansı Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde 1000'de 6,1 olarak bildirilmektedir (Velioglu, Bakirdemir, Can & Topbas, 2010). İç Anadolu Bölgesinde yaygınlık 7 iken şehir merkezlerinde 4,5 ve kentsel alanlarda 1000'de 8,7'dir (Guvener, Işık & Ilbars, 1995). İstanbul'un Avrupa Bölgesinde yaşa göre düzeltilmiş yaygınlık 1000'de 7 ile daha düşüktür (Onal vd., 2002). Sivas kırsal kesiminde prevalans 17,3 (Ozdemir, 1995), Sivas il merkezinde ise prevalans 1000'de 6,1'e düşmektedir (Akyuz vd., 1999). Bursa'da epilepsi prevalansı 1000'de 12,2 olarak bildirilmiştir (Çalışır, Bora, Irgil & Boz, 2006).

2.3. Mekanizma/Patofizyoloji

Epilepsi patofizyolojisi ile ilgili çoğu çalışmada, insan epilepsisini veya insan beyin örneklerini ve elektroensefalografi (EEG)'yi taklit eden hayvan modelleri kullanılmaktadır. Epileptogenez; spontan nöbetlerin oluşmasına neden olan moleküler ve hücrel değişiklikler kaskadının tetiklenmesi ile sonuçlanan beyin hasarı sürecini ifade etmektedir (Bambal, Çakıl & Ekici, 2011). Epileptogenez çalışması, aktif bir epileptik durumla sonuçlanan patogenetik olayların neden olduğu hücrel ve moleküler değişikliklere odaklanır. Bu olaylar beyin yaralanmalarını ve genetik değişiklikleri içerebilir (Devinsky vd., 2018). Epileptogenez yeni terminolojide, sadece epileptik uyarım ile ilk nöbet arasındaki latent dönemi değil, bu latent dönem ile birlikte hastalık teşhisinden sonrada devam eden progresyon mekanizmalarını da içerir (Łukawski vd.,

2018). Sitogenez çalışması, nöbet üretiminin ve nüksün nedenlerini araştırır (Orrin Devinsky vd., 2018).

Beyindeki eksitasyon (E) ve inhibisyon (I) arasındaki normal dengenin bozulması durumunda bir nöbet meydana gelebilir (Stafstrom, Hagerman & Pessah, 2010). Bu E/I dengesizliği, genlerden ve hücre-altı sinyal kaskadlarından geniş nöronal devrelere kadar birçok beyin fonksiyon seviyesindeki değişiklikten kaynaklanabilir. E/I dengesini değiştiren faktörler genetik veya edinsel olabilir. Epilepsiye yol açan genetik patolojiler, devre seviyesinden (örneğin, kortikal displazide anormal sinaptik bağlantı) reseptör seviyesine (örneğin, Angelman Sendromunda anormal g-aminobütirik asit [GABA] reseptör alt birimleri) anormal iyonik kanal fonksiyonuna kadar herhangi bir yerde meydana gelebilir. Benzer şekilde, edinilmiş serebral hareketler, devre fonksiyonunu değiştirebilir (örneğin, uzun süreli ateşli nöbetler veya kafa travmasını takiben hipokampal devrede yapısal değişiklik). Gelişmekte olan beyin, çeşitli fizyolojik nedenlerden dolayı özellikle nöbetlere eğilimlidir. Normal gelişen beyinde bile, uyarıcı sinaptik fonksiyon, inhibe edici sinaptik fonksiyondan önce gelişir ve gelişmiş uyarma ve nöbet oluşumunu destekler (Stafstrom & Carmant, 2015).

2.4. Etiyoloji

Etiyoloji; bir hastalığın altında yatan nedenleri inceleyen alandır. Hastalık nedenleri hastanın kendisinden kaynaklı (intrinsik) veya çevresel etmenlere (ekstrensik) bağlı olabilir. Hastanın ilk epileptik nöbet geçirdiği andan itibaren, klinisyen hastanın epilepsisinin etiyolojisini belirlemeyi amaçlamalıdır. Tedavi için etkileri olanlara vurgu yapan bir dizi etiyolojik grup tanınmıştır (Fisher vd., 2017).

Epilepsi etiyolojisinin araştırılmasında genellikle yapılan ilk inceleme olan nörogörüntüleme temel olarak manyetik rezonans görüntülemeyi (MRI) içerir. Bu, klinisyenin hastanın epilepsisi için yapısal bir etiyoloji olup olmadığına karar vermesini sağlar. Hastalığın etiyolojisinde birden fazla grup etkili olabilmektedir. Çizelge 2.1’de yer alan beş ek etiyolojik grup, genetik, enfeksiyon, metabolik, immun ve bilinmeyen grupları içerir (Fisher vd., 2017).

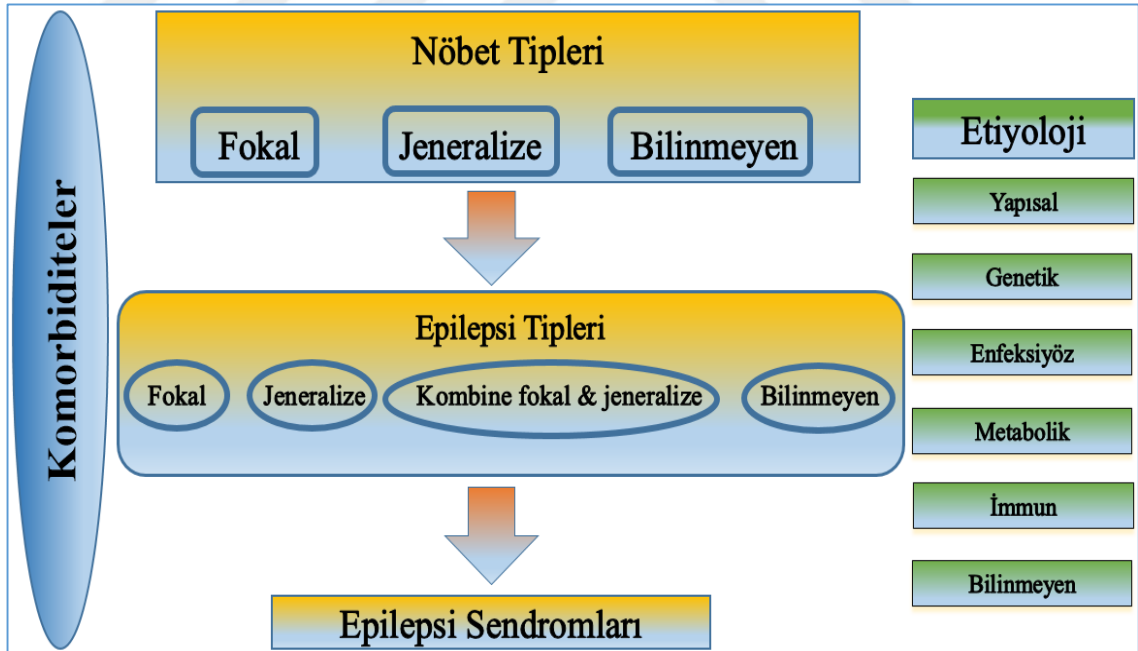
2.5. Sınıflandırma

1969 yılında Gastaut, epilepside uluslararası sınıflandırma için ilk öneriyi yapmıştır (Gastaut, 1969). Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu (ILAE) tarafından 1981 yılında, epilepsi ve epileptik sendromları sınıflandırılması ise yine ILAE tarafından 1989 yılında yapılmıştır (Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1989).

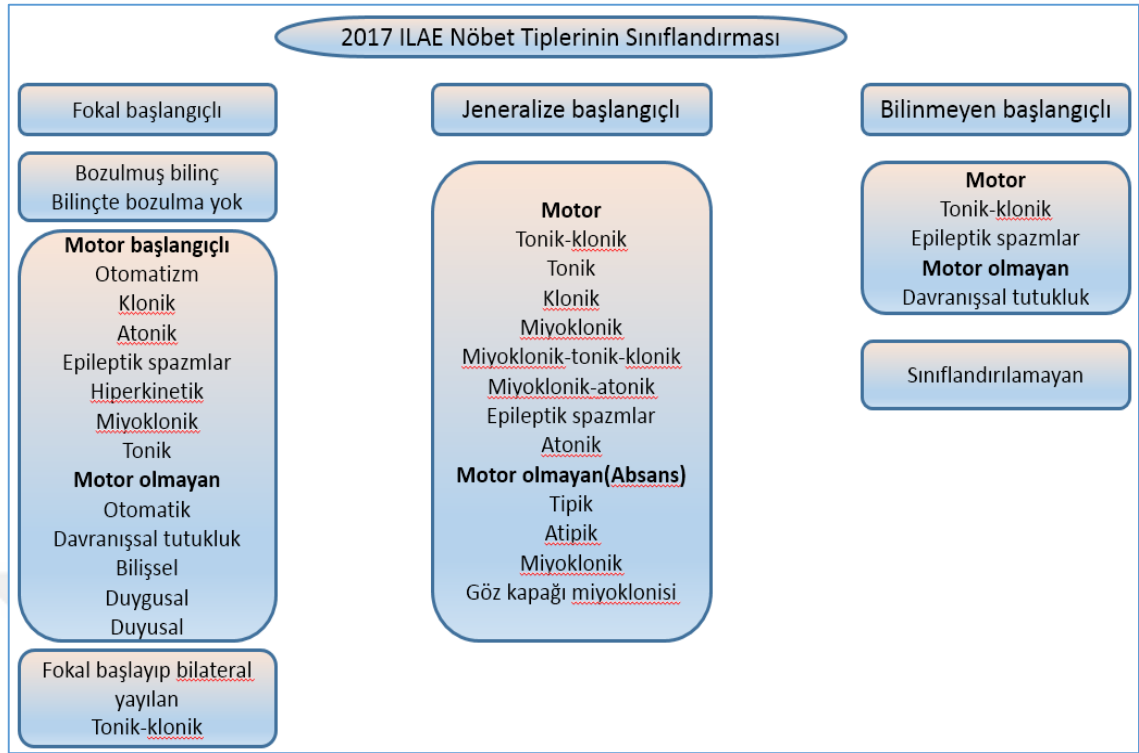
Epilepsi tanısını, sağlık uzmanları arasındaki iletişimi ve profesyoneller ile epilepsi tanılı kişiler arasındaki iletişimi kolaylaştırmak için sınıflandırma şemaları çok önemlidir. Epilepsilerde altta yatan hastalık ve klinik fenotip arasında birebir eşleme olmadığından, en az iki ayrı şemaya ihtiyaç vardır. Bunlar nöbetlerin sınıflandırması (yani klinik olarak gözlemlenebilir fenotipe dayanan şema) ve epilepsi sınıflandırmasıdır (yani başlangıç yaşı, nörogörüntüleme ve genetik yönler, etyoloji ve prognoz gibi nöbet semiyolojisinin ötesindeki yönleri dikkate alan şema). ILAE epileptik nöbetler için sınıflandırma şemasını 2017 yılında revize ederek <https://www.ilae.org/guidelines> adresinde sundu. Buna göre nöbetler fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve başlangıç nedeni belli olmayan nöbetler olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bu pratik araç, nöbetlerin sınıflandırılması, epilepsi sendromları ve etiyolojik kategorilerden oluşan üç katmanlı bir yapı sağlamaktadır (Wehner, 2017).

Çizelge 2.1. Epilepsilerin etiyolojik sınıflandırması (Fisher vd., 2017)

Etiyoloji	Açıklama
Yapısal	Yapısal etiyolojiler; hipoksik-iskemik ensefalopati, inme, travma, enfeksiyon gibi akkiz (çevresel); kortikal gelişimin birçok malformasyonu gibi genetik veya hem genetik hem akkiz birlikte de olabilmektedir
Genetik	Epilepsi genetiğinde giderek artan sayıda gen tanımlanmaktadır. Etiyolojik mekanizmalar içerisinde genetik faktörler başta gelmekte ve tüm epilepsilerin yaklaşık %40-60'ının etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir.
Enfeksiyon	Dünyanın belirli bölgelerinde yaygın örnekler arasında; tüberküloz, HIV, serebral sıtma, subakut sklerozan panensefalit (SSPE), serebral toksoplazmoz ve Zika virüsü, CMV gibi konjenital enfeksiyonlar bulunmaktadır.
Metabolik	Porfiriya, üremi, aminoasidopatiler veya piridoksin bağımlı nöbetler örnek verilebilir. Birçok durumda metabolik bozukluk, genetik bir nedene bağlıdır, ancak bazıları serebral folat eksikliği gibi akkiz de olabilmektedir.
İmmün	İmmün epilepsi kavramı, nöbetlerin doğrudan hastalığın temel semptomu olduğu bir bağışıklık hastalığından kaynaklanmasıdır. Otoimmün ensefalitler için 19 tanısı oranın, özellikle antikor testlerine erişimin artmasıyla birlikte hızla yükselmektedir. Bu gruba anti-NMDA (N-metil-D- <u>aspartat</u>) reseptör ensefaliti ve anti-LGI1 ensefaliti örnek olarak verilebilir. Diğer etiyolojiler hariç tutulduğunda; nöral otoantikorların tespiti ve/veya beyin omurilik sıvısı veya MRG'de enflamatuvar değişikliklerin bulunması, epilepsili bir hastada otoimmün etiyolojiyi düşündürmelidir. Bu hastalarda, mevcut otoimmün epilepsi sendromuna özgü immünoterapi oldukça etkili olabilmektedir
Bilinmeyen	Temel elektronik semiyoloji dışında spesifik bir tanı koymanın mümkün olmadığı nedeni bilinmeyen epilepsi türüdür.



Şekil 2.1. 2017 yılı ILAE nöbet tiplerinin sınıflandırması (Fisher vd., 2017)



Şekil 2.2. 2017 yılı ILAE nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması (Fisher vd., 2017)

2.6. İdiyopatik Jeneralize Epilepsi

İdiyopatik epilepsiler içinde, IJE, iyi bilinen ve yaygın olarak gözlenen bir gruptur. “İdiyopatik” teriminin epilepsi sınıflandırması terminolojisinden çıkarılması önerilmiştir, çünkü tanım “olası kalıtsal yatkınlık dışında bilinen veya şüphelenilen bir etiyoloji yok” anlamı taşımaktadır. Yunanca “idios” terimi benlik, kendi ve kişisel anlamına gelir ve bu nedenle genetik etiyolojiyi açıkça söylemeden yansıtmak içindir. Bu nedenle, idiyopatik, monojenik (kalıtsal veya de novo patojenik varyantları olan) veya kompleks (çevresel faktörlü veya çevresel faktörlü olmayan) kalıtım da dahil olmak üzere birçok epilepside yer alan genlerin keşfi ve haklarındaki bilgilerin artması göz önüne alındığında kesin olmayan bir terim olarak kabul edilebilir. Ayrıca, “genetik” kelimesi bazen yanlış olarak “kalıtsal” ile eşanlamlı olarak yorumlanabilir. Bu nedenle, bu sendrom grubuna, klinisyenin bu sınıflandırma için yeterli kanıt olduğunu düşündüğü Genetik Jeneralize Epilepsiler (GJE) olarak atıf yapmak daha anlamlıdır. Bununla birlikte, IJE terimini korumak için önemli bir arzu vardır. Bu nedenle, IJE teriminin

özellikle iyi bilinen dört epilepsi grubu için kabul edilebilir olduğuna karar verilmiştir: Çocukluk Çağı Absans Epilepsi (ÇÇAE), Juvenil Absans Epilepsi (JAE), Juvenil Miyoklonik Epilepsi (JME) ve Jeneralize Tonik Klonik Epilepsi (JTKN). Bireysel vakalarda GJE terimi, klinisyenin bir genetik etiyoolojiyi çağdırmaktan rahatsız olduğu durumlarda kullanılabilir (Scheffer vd., 2017).

2.6.1. IJE'deki nöbetler

IJE nöbetleri, tipik absans nöbetler (TA), Miyoklonik nöbetler (MN) ve jeneralize tonik-klonik nöbetler (JTKN)'lerdir. Bunlardan TA, neredeyse sadece IJE'ler bağlamında meydana geldiklerinden merkezi bir konuma sahiptir ve nörofizyolojik ve farmakolojik olarak benzersizdir, bu da tedavilerini farklı kılar.

2.6.1.1. Tipik absans nöbetler

TA, kısa, jeneralize epileptik nöbetlerdir, klinik olarak uyarı olmaksızın ortaya çıkan ve aynı zamanda aniden ve postiktal semptomlar olmaksızın sona eren bilinç bozukluğu (yokluk) ve elektrografik olarak jeneralize 4–3 Hz artış ve daha sonra sonlanan yavaş dalga deşarjı ile karakterizedir. Bilinç bozukluğu hafıften şiddetliye kadar değışebilir. Tek başına veya otomatik hareketler, otonomik belirtiler, bölgesel (ağız veya gözler) yada yaygın (baş, uzuvlar ve gövde) ritmik ve rastgele miyokloni gibi diğerk iktal belirtilerle bağlantılı olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle, TA'nın klinik alt tipleri, yalnızca klonik, atonik, tonik veya otonomik bileşenlerle ve otomatik hareketlerle bilinç bozukluğu olan absans durumu içerir. TA kendiliğinden ortaya çıkabilir ve tipik olarak hiperventilasyon ile tetiklenir, fakat aynı zamanda diğerk spesifik tetikleyiciler de etkili olabilir (örn. fotik veya kalıp uyarımı, video oyunları, düşünme ve hatta okuma). ÇÇAE veya JAE gibi bireysel hastalarda tek veya baskın nöbet tipi olabilirler veya JME'de olduğu gibi JTKN veya MN gibi diğerk genel nöbetlerle birlikte olabilirler. TA yaşla birlikte gerileyebilir veya sürekli tedavi gerektirecek şekilde devam edebilir; epilepsili yetişkinlerin yaklaşık %10-15'inde TA vardır ve bu genellikle diğerk jeneralize nöbetlerle birlikte dir. Tipik ve atipik absans nöbetleri arasında bir ayrım yapılmalıdır. TA'nın

tersine, atipik absans yalnızca, atonik, tonik ve miyoklonik nöbetler gibi diğer türlerin sık nöbetlerinden de muzdarip olan, öğrenme güçlüğü çeken çocukların başlıca şiddetli semptomatik veya kriptojenik epilepsileri bağlamında ortaya çıkar. Klinik olarak onset ve ofset TA'daki kadar ani olmayabilir ve iktal ton değişiklikleri genellikle daha belirgindir (Koutroumanidis, 2017).

2.6.1.2. Miyoklonik nöbetler

MN'ler şok benzeri, kısa, düzensiz, aritmik ve daha az sıklıkla ritmik, klonik seğirme hareketleridir. Yüz, uzuv, boyun veya gövde kaslarını değişen kuvvet, genlik ve birleşimlerle etkileyebilirler. Güçleri etkilenen kas gruplarının hafif ve göze çarpmayan hareketlerinden, hastanın yere düşmesine, bir şeyler düşürmesine veya fırlatmasına, havaya tekme atmasına neden olabilecek şiddetli uzuv ve vücut hareketlerine kadar değişebilir. Genellikle, aynı hastalar hafif ve şiddetli sarsıntı bileşenlerini yaşarlar. MN herhangi bir kası veya kas grubunu etkileyebilir. Ağırlıklı olarak göz kapaklarını, yüz ve boyun kaslarını, üst ekstremiteleri alt uzuvlardan daha fazla etkiler. IJE'de MN esas olarak uyanışta ortaya çıkar. Ortaya çıkan faktörler arasında uyku yoksunluğu, yorgunluk, heyecan veya sıkıntı ve sıklıkla fotik uyarım yer alır. Saf MN'de bilinç bozulmaz ve hasta bunların tamamen farkındadır. Bununla birlikte, MN'ler genellikle absans nöbetlerinin tutarlı bir iktal semptomudur. MN'in genellikle yorgunluk, alkol bağımlılığı ve uykusuzluk ile ilgili olduğunu göstermek de önemlidir (Koutroumanidis, 2017).

2.6.1.3. Jeneralize tonik-klonik nöbetler

IJE'deki JTKN, fokal epilepsilerde ikincil JTKN'in aksine, başlangıçtan itibaren genelleştirilmeleri açısından birincildir. Nöbet, epilepsi sendromundan bağımsız olarak aynıdır. Temel fark, önceki ve bazen takip eden klinik ve EEG aşamalarıdır. Fokal epilepsilerdeki JTKN, kortikal odağa ikincildir ve öncesinde subjektif semptomlar (aura) veya fokal başlangıcı gösteren işaretler olabilir. Dramatik olmasına rağmen, JTKN herhangi bir tanısal önem taşımaz. Teşhis, araştırma prosedürleri ve uygun yönetim için

ipuçları sağlayan küçük nöbetlerdir. Hastalar genellikle bir JTKN nedeniyle ilk kez tıbbi yardım isterler. Bu genellikle hatalı bir şekilde "ilk nöbet" olarak kabul edilir ve tedavi edilmez veya araştırılmaz. IJE'deki ilk JTKN genellikle aylarca veya yıllarca tanı konulmamış MN ve TA'dan önce gelir ve uygun tedaviyi harekete geçirmesi gereken bu JTKN'in tanınmasıdır. Tersine, hastalar yıllardır JTKN'e sahip olmayabilirler, ancak bu mutlaka 'hiç nöbet geçirmeyecekleri' anlamına gelmez. Absans veya miyoklonik nöbetler devam edebilir ve tedaviyi bırakmak yerine yeniden optimize edilmelidir (Koutroumanidis, 2017).

2.6.2. IJE’lerde gözlenen sendromlar

2.6.2.1. Çocukluk çağı absans epilepsisi

Tipik absans nöbetlerinin arketipal sendromudur ve genellikle on yaşından önce başlar ve 5-6 yaşında pik yapar. 16 yaşından küçük epilepsisi olan çocuklarda ÇÇAE prevalansı %10-12'dir. Kural olarak tipik absanslar, başvuru sırasında ve ilk aktif devamsızlık dönemi için tek nöbet türüdür, ancak ergenlik veya yetişkin yaşamda seyrek jeneralize tonik-klonik nöbetler ortaya çıkabilir. Tipik absans nöbetleri sık sık meydana gelir (günde onlarca veya yüzlerce), 4–30 saniye sürer (genellikle yaklaşık 10 saniye) ve ciddi bilinç bozukluğu ile ilişkilidir (Wehner, 2017).

2.6.2.2. Juvenil absans epilepsi

Esas olarak ÇÇAE'dekilere benzer, ancak çok daha az sıklıkta ve muhtemelen şiddetli olmayan tipik absans nöbetleri ile karakterizedir. ÇÇAE sendromunda görülen absans nöbetlerinden daha hafif bilinç değişikliği ile seyreder ve daha seyrektirler ancak süreleri daha uzundur. Tipik absans nöbetlerin başlama yaşı 7-16 yaşdır ve tepe noktası 10-12 yıldır. Hastaların çoğunda rastgele ve seyrek miyoklonik sarsıntılar ve seyrek JTKN görülür. Hastaların beşte biri de absans status epileptikus ataklarından muzdariptir (Panayiotopoulos, 2008; Wehner, 2017).

2.6.2.3. Juvenil miyoklonik epilepsi (Janz sendromu)

Uyanma aşamasındaki jeneralize tonik-klonik nöbetler ve TA'lardaki miyoklonik sarsıntılarla karakterizedir ve TA'lar hastaların üçte birinden fazlasında görülür. Hastalar sıklıkla sabah saatlerinde ellerindeki nesneleri düşürmekten yakınır. Miyokloniler ana nöbet tipini oluşturur. Bununla birlikte tipik absans nöbetleri, baskın nöbet tipi değildir ve genellikle çok hafif ve basittir (otomatik hareketler veya lokalize uzuv sarsıntısı olmadan). Sık görülen bu epilepsi sendromu tüm epilepsiler içerisinde %5-10, tüm İJE'ler içerisinde de %20-27 oranında görülmektedir. Daha önceden ÇÇAE sendromu tanısı alan bazı hastalar ilerleyen yaşlarda JME'ye dönüşüm gösterebilir. Ergenlik döneminde ortaya çıkar (Martínez-Juárez vd., 2006). Nöbeti tetikleyen faktörler arasında uyku yoksunluğu ve yorgunluk, alkol ve zihinsel ve psikolojik uyarılma yer alır ve hastaların %40 kadarı ışığa duyarlıdır. TA nöbetleri mevcut olduğunda, 5 ila 16 yaşları arasında başlar, miyoklonik nöbetler genellikle er ya da geç takip eder ve çoğu durumda JTKN en son ortaya çıkar. Bu sendromun yetişkin bir formu da tarif edilmiştir. TA nöbetleri yaşla birlikte daha az şiddetli hale gelebilmesine ve miyoklonik nöbet ve JTKN genellikle yaşamın dördüncü on yılından sonra iyileşmesine rağmen, tüm nöbet türleri muhtemelen yaşam boyu sürmektedir. Tek başına JME prevalansı, nöbetleri olan yetişkinlerin yaklaşık %9'udur ve her iki cinsiyet eşit şekilde etkilenir (Wehner, 2017).

2.6.2.4. Sadece jeneralize tonik-klonik nöbetler ile seyreden İJE'ler

Özellikle uyanma dönemlerinde JTKN geçirme ile seyreden, en yüksek başlangıç yaşı 16-17 olan ve erkeklerde görece daha sık gözlenen bir tablodur. Bu sendromda görülen jeneralize tonik-klonik nöbetler her an ortaya çıkabilir. Yukarıda belirtilen sendromların çoğu gibi, uykusuzluk ve alkol de nöbetleri artırır. JTKN'lere diğer nöbet tipleri eşlik etmediği belirtilmektedir (Durón, 2005; Nordli, 2005).

2.7. Epilepsi Genetiği

Araştırmacılar ve klinisyenler epilepsi genetiğinde heyecan verici yeni bir aşamanın ortasındadırlar. Genomik teknolojilerin uygulanması, epilepsinin genetik

temelinin keşfedilmesinde muazzam bir etkiye sahiptir ve epilepsinin tanı ve tedavisinde çok önemli rol oynaması beklenmektedir. 1995 yılında epilepsi ile ilişkili ilk genin tanımlanmasından bu yana bu alan, geniş aile çalışmalarında zahmetli gen keşfinin erken bir aşamasından geçti ve ardından genom çapında ilişkilendirme çalışmalarına (GWAS) odaklanan hayal kırıklığı yaratan bir dönem ve ardından genomik sıralama ve hızlı gen keşfi dönemleri yaşandı. 2019 itibarıyla 140'tan fazla epilepsi ile ilişkili gen veya lokus, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) veritabanında listelenmiştir. Epilepsilerin yarısından fazlasının genetik temeli olduğu tahmin edilmektedir. Gen keşfindeki gelişmeler, epilepsinin karmaşık ve çeşitli nörobiyolojik mekanizmaları hakkında yeni anlayışlara yol açmıştır. Bu tür keşifler, epilepsileri kavramsallaştırmada etiyolojiyi ve özellikle genetik etiyolojileri vurgulayan, ILAE 2017 sınıflandırma çerçevesine katkıda bulunmuştur (Ellis, Petrovski & Berkovic, 2019; Wang vd., 2017). ILAE, toplamda 76 farklı epilepsi geninin tanımlandığını ve bunların hepsinin farklı yaş gruplarıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir (bazıları birden fazla yaş grubuyla tanımlanmıştır) [Bebekler arasında tanımlanmış 49 gen (0-12 ay), çocukluk döneminde 31 gen tanımlanmıştır (13 ay-12 yaş), ergen bireylerde tanımlanmış 13 gen (13 yaş-28 yaş) ve yetişkinler arasında tanımlanmış 9 gen (18 yaş üstü)] (Bamikole vd., 2019).

2.7.1. Genetik Epilepsilerin Sınıflandırılması

2.7.1.1. Mendel epilepsileri

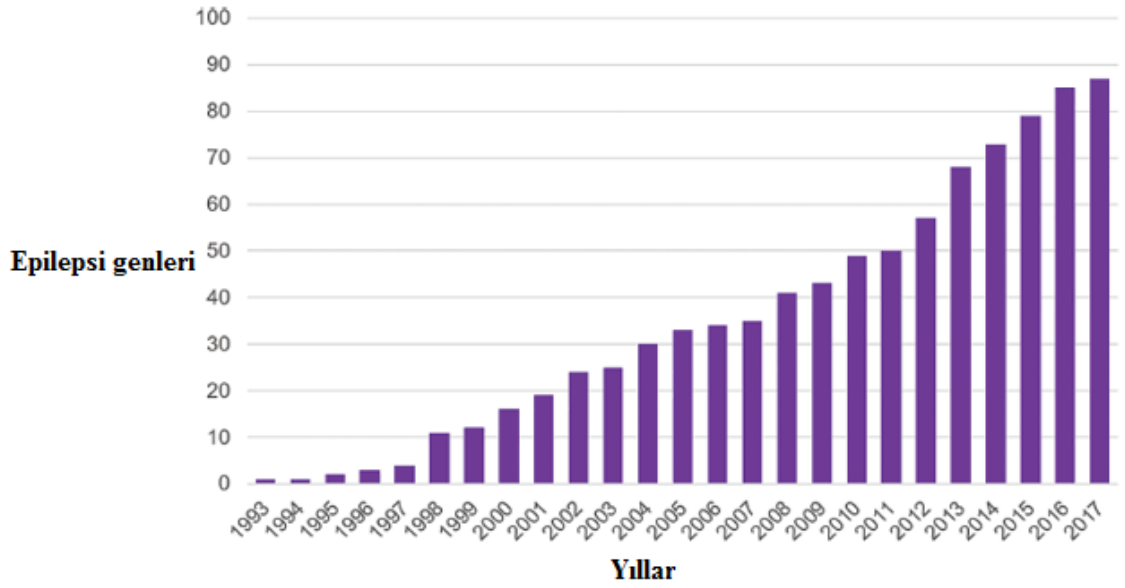
Mendel epilepsilerine tek bir genin eksik olması veya değişmesi neden olur. Burada tek bir majör lokus, bir ailede hastalık özelliğinin ayrılmasını açıklar ve her biri nöbetlerin başladığı farklı bir yaşla, nöbet türleriyle ve diğerleriyle ilişkilidir. İyi huylu ailesel yenidoğan konvülsiyonları ve iyi huylu ailesel infantil konvülsiyonlar, otozomal dominant noktürn frontal lob epilepsisi ve ateşli nöbetler artı genelleştirilmiş epilepsi gibi az sayıda “idiyopatik” mendelyan epilepsi vardır. Mendel epilepsisi olan epilepsiler nadirdir, ancak akraba riski oldukça yüksektir (Bamikole vd., 2019).

2.7.1.2. Mendel dışı veya "karmaşık" epilepsiler

Bu mutasyon, genellikle ailevi kümelenme paterninin çeşitli duyarlılık lokusları ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim ile açıklandığı çocuk miyoklonik epilepsi gibi çevresel etki ile birlikte bir dizi gende meydana gelir. Örnek olarak çocukluk dönemi yokluğu epilepsisi ve çocuk miyoklonik epilepsisi gibi varlıklar verilebilir. Bu, hücre çekirdeği dışında bulunan deoksiribonukleikasit (DNA) mutasyonlarından kaynaklanan mitokondriyal bozukluklar ve epigenetik bozukluklar olarak ayrılır. Bu bozukluklar, çevre ile ilgili genlerin aktivitesindeki değişikliklerle ilgilidir. Karmaşık epilepsilerin yaygın örnekleri arasında JME bulunur. Çoğu epilepside kalıtım paterni genellikle mendelyan değildir, bu nedenle akraba riskleri oldukça düşüktür (Bamikole vd., 2019).

2.7.1.3. Kromozomal bozukluklar

Kromozomal bozukluk, özellikle otozomal kromozom dengesizliklerini içerenler, kopya sayısı değişiklikleri ve diğer nörolojik varyasyonlarla ilişkili olan brüt sitogenetik anormalliklerin varlığına neden olur. Kromozom 20'deki bir anormallik, çocuklarda epilepsiye neden olan tipik nadir bir durumdur. Diğer örnekler arasında Miller-Dieker Sendromu, 18q sendromu ve monozomi 1p36 yer alır (Bamikole vd., 2019).



Şekil 2.3. Yıllara göre bilinen epilepsi genleri (Tabloya epilepsi ile yüksek prevalans gösteren metabolik hastalıklar ve entelektüel yetersizlik bağlantılı genler dahil edilmemiştir) (Myers, Johnstone & Dymont, 2019).

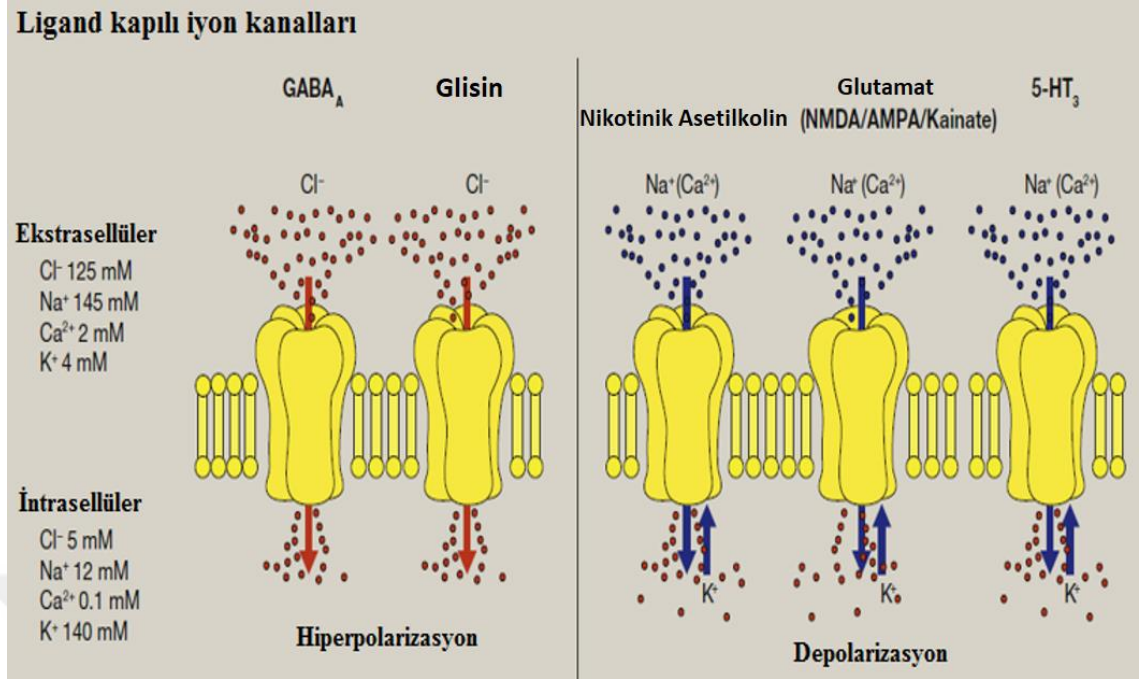
2.7.2. Kanalopatiler

"Kanalopati" terimi, iyon kanallarının genetik veya edinilmiş işlev bozukluğunun temelini oluşturan geniş bir bozukluk yelpazesini kapsar. İyon kanalları, elektrokimyasal gradyanlarına göre iyonların içeri akışını veya çıkışını kolaylaştırmak için gözenek oluşturdıkları, hücre zarlarının lipit çift tabakası boyunca yer alan proteinlerdir. Her kanal, belirli iyonlara karşı seçici bir geçirgenlik sergiler, bunların trafiği kanal durumu tarafından sınırlanır: açık, inaktive edilmiş kapalı ve dinlenme kapalı (Emanuele Bartolini et al, 2020). Nöronun uyarılabilirliği için gerekli görevleri açısından, iyon kanalları epileptogenezde potansiyel olarak kritik bir rol oynar. İyon kanalı genleri ile epilepsi arasındaki ilişki, epilepsinin altında yatan mekanizmaları hakkında fikir verebilir (Feng vd., 2017). İyon kanallarının epilepsiye karıştığı bilinen üç ana yol vardır. İlk olarak, ailesel idiyopatik epilepsilerde özellikli mutasyonlar vardır; ikinci olarak, edinilmiş nöbetle ilişkili bozukluklarda spesifik antikorlar vardır; ve üçüncü olarak da, nöbet aktivitesinin modifikasyonu ile ilişkili iyon kanalı ifadesinde ve fonksiyonunda, tüm epilepsi formlarına katkıda bulunabilecek değişiklikler vardır (Lerche vd., 2013).

Üç ana tip iyon kanalı vardır, voltaj kapılı, hücre dışı ligand kapılı ve iki grup muhtelif iyon kanalıyla birlikte hücre içi ligand kapılı. Bu iyon kanalları, sinapslar ve boşluk bağlantıları yoluyla sinir ve diğer elektriksel olarak aktif hücre türleri arasındaki sinyallerin iletilmesinden sorumludur (Lerche vd., 2013).

2.7.2.1. Ligand kapılı iyon kanalları

Ligand kapılı iyon kanalları, büyük glikoprotein alt birimlerinden yapılan multimerik proteinlerdir. Kanal kompleksi içindeki farklı bir bölgeye veya bölgelere kimyasal (agonist) olarak bağlanarak aktive edilirler. Çoğu durumda, presinaptik nöronlardan salınan nörotransmitterler, hızlı (milisaniye zaman ölçeğinde) nöronal iletişim için gerekli olan karmaşık entegre bir sürecin parçası olarak görev yapan birincil agonistler olarak hizmet eder. Nörotransmitterin proteine bağlanması, konformasyonel bir değişikliğe neden olur ve bu da integral iyon kanalının açılmasıyla sonuçlanır. Aktive edilmiş kanaldan geçen iyon akışının yükü ve yönü, hücresel işlev üzerindeki etkisini (yani depolarizasyon veya hiperpolarizasyon) belirler (Weir, 2020).



Şekil 2.4. Ligand kapılı iyon kanalları(Weir, 2020)

2.7.2.2. Voltaj kapılı iyon kanalları

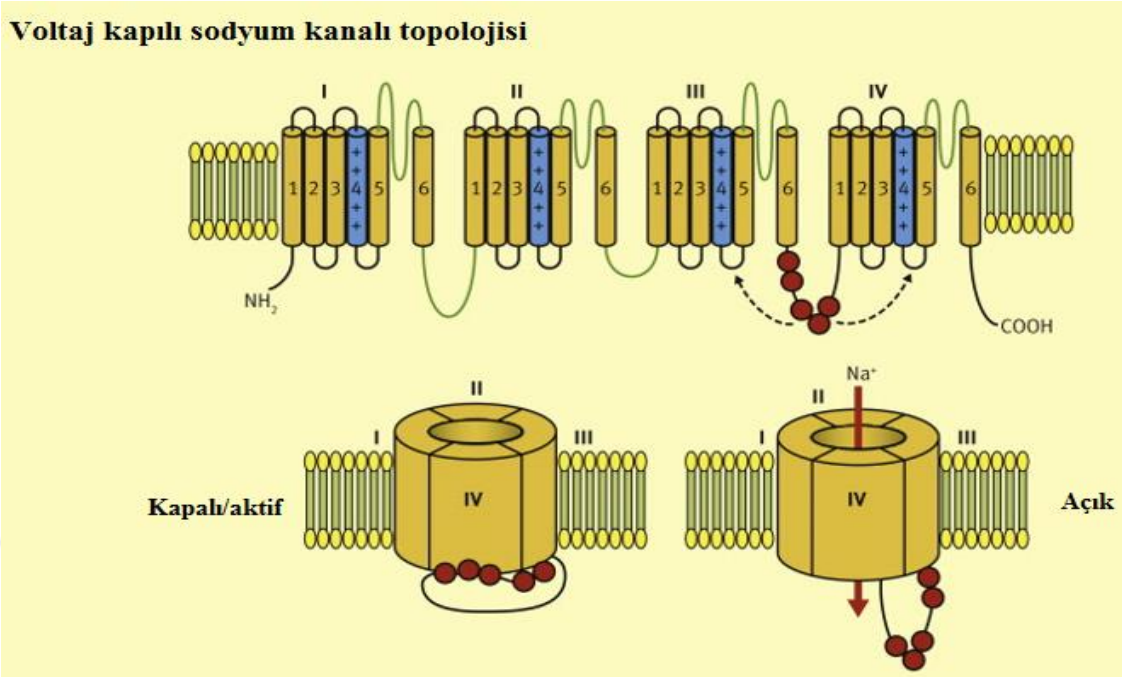
Adından da anlaşılacağı gibi voltaj kapılı iyon kanalları, yerel membran potansiyelindeki değişikliklerle etkinleştirilir. Potasyum (K^+), sodyum (Na^+) ve kalsiyum iyonlarına (Ca^{2+}) seçici geçirgen olan, klinik açıdan önemli üç kanal aşağıda açıklanmaktadır.

Voltaj kapılı iyon kanalı topolojisi: K^+ kanalları, temel olarak değişken sayıda transmembran ve gözenek oluşturuıcı bölgeleri içeren tek alt birimlerden oluşur. Bazı K^+ kanalları muhtemelen dimerler veya tetramerler olarak mevcuttur. Bugüne kadar 70'den fazla farklı K kanalı alt tipi tanımlanmıştır. Buna karşılık, voltaj kapılı Na^+ ve Ca^{2+} kanalları içindeki α -alt birimi, her biri altı transmembran alanı içeren dört özdeş bölgeden oluşur (Şekil 3). Voltaj algılama bölgesi, esas olarak pozitif yüklü amino asitler içerir ve S4 segmentinde bulunur. Proteinin kuaterner katlanması, iç kanal gözenğine katkıda bulunan S5 ve S6 segmentleri arasındaki amino asitlerle, halka şeklinde bir molekül üretir. Kapalı durumda, IIIeIV bölgelerini birleştiren bir mobil hücre içi halka, kanalı kapatmak veya inaktive etmek için bir elektromekanik blok görevi görür (Weir, 2020).

K⁺ kanalları: dinlenme zarı potansiyeli ve aksiyon potansiyelinin sıklığı ve süresi üzerindeki etkileri nedeniyle hücrel uyarlabilirliğin önemli düzenleyicileridir. Örneğin, belirli voltaj-kapılı K⁺ kanalı alt tipleri, aksiyon potansiyelinin erken evresinde aktive edilir ve yavaş, ancak sürekli dışa doğru K⁺ akımı üretir. Bu yavaş dışa doğru akım, hızlı içe doğru Na⁺ akımına karşı koyar ve membran potansiyelini dinlenme membran potansiyeline geri getirir. Bu nedenle, K⁺ kanalı fonksiyonunun değiştirilmesi, aksiyon potansiyeli kinetiği üzerinde derin bir etkiye sahip olacaktır (Weir, 2020).

Na⁺ kanalları: Normal koşullar altında, uyarlabilir hücrelerin dinlenme membran potansiyeli, K⁺lık sabit bir dışa doğru sızıntıyla yaklaşık 70 mV'de tutulur. Membran potansiyelinin yaklaşık 55 mV'lik bir eşiğin ötesinde küçük pozitif kaymaları, aynı anda Na⁺'nın açılmasına neden olur kanallar. Kanal açılması, Na⁺'nın hızlı bir içe doğru hareketine neden olarak membran depolarizasyonunun yaklaşık +40 mV'ye çıkmasına neden olur. Na⁺ kanalının dokuz farklı alt tipi, gözenek oluşturan bir alt birimin (Nav1.1 eNav1.9) doğasına, bunların Na⁺ kanalı bloke edici tetrodotoksine duyarlılığına ve farklı kanal inaktivasyon oranlarına göre tanımlanmıştır. Klinik olarak ilgili voltajla aktive olan Na⁺ kanalı alt tiplerinin çoğu, nöronlarda ve kalp ve iskelet kasında bulunur (Weir, 2020).

Ca²⁺ kanalları: Ca²⁺ iyonları her yerde bulunur, ancak nörotransmitter salınımı ve hücre içi sinyalleşme dâhil olmak üzere birçok önemli hücrel sürecin temel araçlarıdır. Ca²⁺ konsantrasyonları, serbest hücre içi kalsiyumun hassas kontrolünü sağlamak için birçoğu yakından entegre olan çeşitli yollarla düzenlenir. Voltaj kapılı iyon kanalları en çok uyarlabilir hücrelerde bulunur. Elektrofizyolojik özelliklerine ve antagonistlere duyarlılık ve seçiciliklerine göre beş ana alt tipten (L, N, T, P / Q ve R) oluşurlar. Gözenek oluşturan Cav1.1eCav1.4 alt birimini içeren L tipi kanallar, düz ve kalp kasında Ca²⁺ ile ilgili olaylara aracılık ettikleri ve alt tipleri dihidropiridin antagonistleri tarafından farklı derecelerde de olsa seçici olarak bloke edildiğinden, belki de klinik olarak en alakalı olanlardır. (örneğin nifedipin, verapamil ve diltiazem). T tipi kanallar (Cav3.1eCav3.3), atriyal ve vasküler düz kasta pacemaker aktivitesine katkıda bulunur ve mibefradil tarafından seçici olarak bloke edilebilir (QT aralığını uzatan diğer ilaçlarla etkileşim nedeniyle geri çekilir). Bugüne kadar, kalan üç alt tip için (N, Cav2.2; P / Q, Cav2.1 ve R, Cav2.3) klinik olarak yararlı hiçbir antagonist sunulmamıştır (Weir, 2020).



Şekil 2.5. Voltaj kapılı sodyum kanal topolojisi (Weir, 2020)

2.7.2.3. Genetik Epilepsilerde İyon Kanalları

Onlarca yıldır bilim adamları epilepsilerin moleküler arka planını çözmeye çalışmaktadırlar. 1995'te epilepsi ile ilişkili ilk iyon kanalı belirlenmiştir; asetilkolin reseptörü alfa 4 alt biriminde (*CHRNA4*) kuvvetli bir şekilde korunmuş bir amino asit kalıntısındaki bir mutasyon, otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi ile ilişkili olarak keşfedilmiştir (Steinlein vd., 1995) Bu ilk keşiften sonra, voltaj kapılı sodyum, potasyum, kalsiyum ve hiperpolarize aktive siklik nükleotid kapılı kanallara ait genler de dahil olmak üzere diğer birçok iyon kanalının epilepsiye bağlı olduğu bildirilmiştir. Voltaj kapılı iyon kanallarının yanı sıra, birkaç ligand kapılı iyon kanal genleri, iyonotropik glutamat reseptörleri, GABAA reseptörleri ve nikotinik asetilkolin reseptörleri dahil olmak üzere epilepsi ile ilişkili genler olarak tanımlanmışlardır.

Mevcut bilgilerimize göre genetik epilepsinin aşağıdakilerin sonucu olabileceği düşünülmektedir: (i) yüksek penetransa sahip nadir varyantlar (aynı zamanda monojenik veya 'yaygın hastalık-nadir varyant modeli' olarak da bilinir) veya (ii) düşük penetransa sahip olan yaygın varyantların sonucu olabilir (aynı zamanda poligenik veya 'ortak hastalık-ortak varyantlar modeli' olarak da bilinir). Bu tür nadir varyantlar günümüzde

yeni nesil sekanslama yaklaşımlarıyla (örn., Ekzom sekanslama veya tüm genom sekanslama) tanımlanabilirken, ortak varyantların (tek nükleotid polimorfizmleri) tanımlanması için, GWAS, geniş hasta ve kontrol kohortlarında vazgeçilmezdir (International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies, 2018). Bununla birlikte, yaygın varyantların kesin olarak hastalıkla ilişkilendirilmesi genellikle zordur, çünkü bu varyantlar yalnızca minimum düzeyde katkıda bulunur ve ayrıca patolojik bir sonuç için ek bir çevresel faktör gerektirebilir. Epilepside, iyon kanalı genlerinde hem nadir hem de yaygın varyantlar tanımlanmıştır. Muhtemelen en çok çalışılan ve en iyi belgelenmiş epilepsi geni olan sodyum kanalı *SCN1A*'daki mutasyonlar, bir dizi epilepsi sendromuna neden olabilir (Van Loo & Becker, 2020).

2.7.3. İdiyopatik Jeneralize Epilepsi Genetiği

IJE yaygın bir epilepsi türüdür. IJE'de genetik rol için güçlü destek, ikiz ve aile çalışmalarından gelir. IJE'nin birkaç alt tipi bildirilmiştir, ancak ailelerin genellikle farklı alt tiplerden etkilenen üyeleri vardır. Monogenik kalıtsal epilepsilerin genetik temelini anlamada önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bununla birlikte, çoğu IJE, karmaşık genetik hastalıklardır ve bazı duyarlı IJE genleri, spesifik kombinasyonlarda alt tipleri belirler. DNA mikrodizin analizleri ve sekanslama teknolojileri gibi yüksek verimli teknolojiler, ailesel olmayan durumlarda nedensel genleri veya lokusları tanımlama potansiyeline sahiptir (Prasad, Satyanarayana & Munshi, 2013).

Epilepsilerde genetik rol için güçlü bir destek, dizigotik ikizlere kıyasla monozigotik ikizlerde uyum oranlarının sürekli olarak daha yüksek olduğunu gösteren ikiz çalışmalarından gelir. IJE'lerin genetik bozukluklar olduğu varsayılır ve bu doğrultuda yapılan araştırmalar hastalıktan sorumlu çeşitli genetik değişikliklerin tanımlanmasına izin verir. Bugüne kadar, IJE'lerin yaklaşık %2-8'inin monogenik olduğu düşünülmektedir. Monogenik epilepsilerin çoğunda, nöronal uyarılabilirliğe aracılık eden ve fonksiyon kaybı veya fonksiyonu anormal üretime ve yayılma potansiyeline yol açan iyon kanalı alt birimlerini (örneğin, voltaj kapılı Na^+ ve K^+ kanalı alt birimleri) kodlayan genlerin varyantlarının hastalık ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, iyonik olmayan kanal proteinlerini kodlayan genlerin de hastalığın gelişiminde rol oynadığı

gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu durumlarda, nöbet indüksiyonundan sorumlu epileptojenik mekanizmaların tanımlanması net değildir ve iyon kanalları ile fonksiyonel etkileşimin söz konusu olduğu düşünülmektedir. Ne varki çoğu IJE sendromları karmaşık genetik hastalıklardır. Etkilenen bireylerin akrabalarında daha sık görülmesine rağmen, tek bir Mendelyan kalıtım paternini takip etmezler. Bu, aynı anda birden fazla genin etkileşiminden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, duyarlı genlerin çeşitliliği hastalık riskinin belirlenmesinde önemlidir (Myers, Johnstone & Dymment, 2019).

2.7.3.1 *SCN1A* (Sodium Channel, Neuronal Type I, Alpha Subunit) Geni

Sodyum kanalının alfa 1 alt birimini kodlayan *SCN1A*, bir dizi hastalık ile ilişkilidir. 2000 yılında epilepsi ile ilk kez bağlantılı olarak saptandığı için *SCN1A* en önemli epilepsi geni olarak kalmıştır. Epilepside *SCN1A* ile ilişkili en iyi bilinen fenotip Dravet sendromudur (DS), ancak aynı zamanda birçoğu önemli komorbiditelerle ilişkili diğer birkaç epilepsi sendromu da *SCN1A* geni ile ilişkilendirilmiştir. *SCN1A*, hemiplejik migren ve otizm spektrum bozukluğu (OSB) gibi diğer hastalıklarda da rol oynamaktadır (Scheffer & Nabbout, 2019).

2.7.3.2 *KCNT1* (Potassium Channel, Subfamily T, Member 1) Geni

KCNT1, kromozom 9q34.3'te bulunur. İnsanlarda bir uzun ve bir kısa izoformu bildirilmiş olmasına rağmen, 31 ekzondan oluşan uzun izoformun ağırlıklı olarak eksprese edilen fonksiyonel proteini kodladığı düşünülmektedir ve daha kapsamlı olarak çalışılmıştır. 1235 amino asit ile şimdiye kadar tespit edilmiş en büyük potasyum kanalıdır. *KCNT1* geni, sinir sisteminde yaygın olarak ifade edilen sodyumla aktive edilmiş bir potasyum kanalını kodlar. *KCNT1* ekspresyonu, beyin sapı çekirdeklerinde, serebellumda ve koku soğancığında santral sinir sistemi boyunca güçlüdür ve hipokampus ve frontal kortekste daha az kuvvetlidir (Gertler, Bearden, Bhattacharjee & Carvill, 2018).

Son birkaç yıl içinde, West sendromu, Ohtahara sendromu ve sınıflandırılmamış erken başlangıçlı epileptik ensefalopati gibi diğer erken başlangıçlı epileptik

ensefaolopatileri olan hastalarda ve fokal epilepsilerin yanı sıra lökoensefalopati ve lökodistrofi olan hastalarda *KCNT1* varyantları tanımlanmış olup, bu da *KCNT1* varyantlarının ilk araştırmalarda şüphelenilenden daha geniş bir fenotip yelpazesine neden olabileceğini göstermektedir. Özellikle ilgi çekici olan, aynı aile içinde bile aynı *KCNT1* varyantı ile birden fazla fenotipin birlikte ortaya çıkmasıdır. Bu fenomen, *KCNT1* ile ilişkili fenotipin belirlenmesinin karmaşık olduğunu ve sadece varyantın kendisi tarafından belirlenmediğini, aynı zamanda çevresel etkiler veya düzenleyici genler gibi değiştirici faktörlerden de etkilendiğini göstermektedir (Dechene, 2016, parag.2).

2.7.3.3 KCNQ2 (Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily Member 2) ve KCNQ3 (Potassium Channel, Voltage-Gated, Kqt-Like Subfamily, Member 3) Genleri

KCNQ2 ve *KCNQ3* beyinde ağırlıklı olarak benign ailesel infantil nöbet (BFIS)'in olduğu zamana denk gelen geç fetal yaşamdan erken bebeklik dönemine kadar hipokampus, temporal korteks, serebellar korteks ve medulla oblongata'da ifade edilir. Dinlenme membran potansiyelinin modülasyonunda önemli olan, yavaş aktive ve inaktive edici olmayan nöronal muskarinik regüle potasyum akımı (M-akımı) üreten voltaj kapılı Kv7.2 ve Kv7.3 kanallarını kodlarlar. Bu olay, nöronal ateşlemenin tekrarlanmasını sınırlar (Nicita vd., 2012).

KCNQ2 geni, 20q13.3 kromozomu üzerinde bulunan ve esas olarak beyinde eksprese edilen bir potasyum kanal genidir. Nöronal ateşlemedeki önemli rolü nedeniyle, *KCNQ2* ile ilişkili bozukluklar, nispeten iyi bir prognoza sahip iyi huylu ailesel neonatal epilepsiden (BDE) daha kötü nörogelişimsel seyire sebep olan neonatal epileptik fenotipe kadar geniş bir spektruma sahiptir. Miyokimi, iyi huylu ailesel infantil nöbetler (BFIS) ve infantil spazmlar gibi diğer nadir fenotipler de rapor edilmiştir. Yang ve ark. yaptığı in vitro fonksiyonel analizler, *KCNQ3* kanalının voltaj kapılı, hızla aktive olan K^+ *KCNQ1*'e benzer bir seçici kanal olduğunu göstermiştir (Lucarini, Verrotti, Napolioni, Bosco & Curatolo, 2007).

2.7.3.4. *CLCN2* (Chloride Channel 2) Geni

CLCN2 geni, adrenal glomerülozda yüksek ekspresyonu olan voltaj kapılı klorür kanalını kodlar. Kanalin açılması glomerulosa hücrelerini depolarize eder ve aldosteron sentazın ekspresyonunu indükler. Klorür kanalları (ClC), klorür iyonları veya hücre zarındaki diğer anyonlar için bir tür geçirgen kanal proteindir ve ClC proteinleri, ClC ailesinin genleri tarafından kodlanır (Scholl vd., 2018). ClC'ler üç ayrı alt aileye sınıflandırılan dokuz aile üyesine sahiptir. ClC-2, başlangıçta sıçan kalbinden, beyninden ve daha sonra tavşan kalbinden izole edilmiştir. ClC-2 iki gözenekli homodimerik, voltaj kapılı bir klorür kanalıdır. ClC-2 hiperpolarizasyon, hücre genişmesi, hücre dışı hipotoniklik ve hücre dışı asitleştirme ile aktive edilebilir. ClC-2, üreter tomurcuk hücreleri, bağırsak, mide parietal hücreleri, karaciğer, akciğer, sıçan retinası, parotis asiner hücreleri, kobay kalp kası, nöron hücreleri, sıçan ve insan solunum yolları dahil olmak üzere neredeyse her yerde eksprese edilir (Wang vd., 2017).

2.7.3.5. *SCN1B* (Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Beta Subunit) Geni

Voltaj kapılı sodyum kanalları, büyük bir a alt birim ve iki küçük b alt birimden (b1 ve b2) oluşur. *SCN1B* geni, voltaj kapılı sodyum kanallarının beta-1 alt birimini kodlar. Voltaj kapılı sodyum kanalları, nöronlar da dâhil olmak üzere uyarılabilir hücrelerde aksiyon potansiyeli üretimi için gerekli olan multimerik protein kompleksleridir ve merkezi gözenek oluşturan alfa alt birimi ve 2 beta alt biriminden oluşur. Sodyum kanal beta-1 alt birimleri, kanal voltaj bağımlılığını ve geçişini, kanalın hücre yüzeyi ekspresyonunu ve hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasını modüle eder (Patino vd., 2009).

2.7.3.6. *SCN2A* (Sodium Voltage-Gated Channel, Alpha Subunit 2) Geni

Birçok hücre tipinde sodyum kanalları, ana olarak sinir ve kasta aksiyon potansiyellerinin (AP) üretilmesinden ve yayılmasından sorumludur. Voltaja duyarlı sodyum kanalları, büyük bir glikosile alfa alt biriminden (yaklaşık 260 kD) ve 2 küçük beta alt biriminden (33-39 kD) oluşan heteromerik komplekslerdir. *SCN2A* geni 29 ekzon içerir. (Kasai vd., 2001).

Beyinde AP'lerin başlatılmasından ve yayılmasından sorumlu olan dört ana sodyum kanalından biri olan voltajlı sodyum kanalı NaV1.2'yi kodlayan *SCN2A* geni çeşitli epilepsi sendromlarına neden olan genlerden biridir. Tüm genetik epilepsilere gelince, *SCN2A* ile ilişkili epilepsilerin fenotipik spektrumu, hafif epilepsi sendromlarından ciddi gelişimsel ve epileptik ensefalopatilere kadar geniştir. *SCN2A* geninde 140'tan fazla varyant tanımlanmıştır (Hedrich, Lauxmann & Lerche, 2019).

2.7.3.7. *SCN9A* (Sodium Voltage-Gated Channel, Alpha Subunit 9) Geni

SCN9A, periferik sinir sisteminin nosiseptif ve sempatik nöronları ile zenginleştirilmiş, voltaj kapılı bir sodyum kanalıdır. Beynin subkortikal yapılarında da ifade edilir (McDermott vd., 2019). *SCN9A* geni, voltaj kapılı sodyum kanallarının bilinen dokuz üyesinden biri olan voltaj kapılı sodyum kanalı NaV1.7'yi kodlar. Esas olarak dorsal kök gangliyon nöronlarında ifade edilir, bu nedenle mutasyonları esas olarak ağrı bozuklukları ile ilişkilidir. Bununla birlikte, giderek daha fazla çalışma, hastalarda *SCN9A* mutasyonlarının son yıllarda ateşli nöbetler, febril nöbet artı jeneralize epilepsy (GEFS+) ve DS dahil olmak üzere değişken epilepsi fenotipleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Zhang, Chen, Zhu, Zhang & Fang, 2020).

2.7.3.8. *SLC2A1* (Solute Carrier Family 2, Member 1) Geni

Glukoz taşıyıcı 1 (*GLUT1*) proteini beyin, plasenta ve eritrositlerde ana glikoz taşıyıcıyı kodlar (Baroni vd., 1992). Glikoz beyin hücreleri için enerji sağlar. *GLUT1*, kan-beyin bariyeri üzerinde glikoz taşınmasında önemli bir rol oynayan *SLC2A1* geni tarafından kodlanan bir membran proteinidir (Üstyol vd., 2019). *SLC2A1* geninin 10 ekzon içerdiğini ve yaklaşık 35 kb'yi kapsar (Wang, Kranz-Eble & De Vivo, 2000). *SLC2A1*, esas olarak ilaca dirençli hastalarda bir tedavi seçeneği olan ketojenik diyet ile ilişkisi nedeniyle ILAE yönergelerine göre en önemli epilepsi genlerinden biri olarak tanımlanmıştır (Altiokka-Uzun vd, 2018).

2.7.3.9. *TBC1D24* (Tbc1 Domain Family, Member 24) Geni

TBC1D24 geni, hücre içi veziküllerin doğru taşınması için Rab proteinlerini ve diğer GTPazları koordine eden Tre2-Bub2-Cdc16 (TBC) domainini içeren Rab'a spesifik GTPaz aktive edici proteinlerin bir üyesini kodlar (Campeau vd., 2014). TBC alanı beyin

ve somatik gelişimde vezikül kaçakları ile ilgili iken, TBC/lysin motif domain/catalytic (TLDC) alanının işlevi büyük ölçüde bilinmemektedir (Zhang vd., 2019). Rab-GTPazların yanı sıra, ektopik olarak eksprese edilen *TBC1D24* ayrıca, hücre çevresindeki veziküler trafiğin ve aktin organizasyonunun kontrolünde önemli bir rol oynayan Ras süper ailesinin küçük bir GTPaz olan ADP-ribosylation factor 6 (*ARF6*)'nın aktivitesini bağlar ve bastırır (Lin vd., 2020). Falace ve arkadaşları ilk olarak ailesel infantil miyoklonik epilepsi (FIME) lokusu kromozom 16p13.3 üzerinde bağlantı analizi ile haritalanmıştır (Falace vd., 2019).

2.7.3.10. *GABRA1* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-1), *GABRA2* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-2) ve *GABRD* (Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Delta) Genleri

Gama-aminobütirik asit (GABA), zara bağlı γ -aminobütirik asit tip A ($GABA_A$) reseptörlerine bağlanarak sinyalleri hücreden hücreye aktaran sekresyon transmitterleridir. GABA'nın $GABA_A$ reseptörlerine bağlanması bir iyon kanalı açarak klorür veya hidrojenkarbonat iyonlarının geçmesine izin verir ve böylece membran potansiyelini değiştirir. Çok çeşitli dokularda birçok rol oynarken, $GABA_A$ reseptörleri ailesi en çok hızlı GABAergik nörotransmisyonun merkezi sinir sistemi aracısı olarak çalışmaktadır (Steudle vd., 2020).

Ligand kapılı bir klorür iyon kanalı olan $GABA_A$ reseptörü, merkezi sinir sisteminde GABAergik inhibe edici bileşen olarak işlev görür. $GABA_A$ reseptörleri heteropentamerlerdir ve her biri, 19 potansiyel alt birimden 5'i kullanılarak birleştirilir. Bu alt birimlerin pentamerik birleşimi, hücre zarında merkezi bir iyon gözeneği oluşturur. Beyinde birçok alt birim türü ifade edilmesine rağmen, en bol bulunan $GABA_A$ reseptörlerinin iki $\alpha 1$, iki $\beta 2$ ve bir $\gamma 2$ alt birimi içerdiği düşünülmektedir (Hirofumi Koda vd., 2016).

Son 15 yılda, $GABA_A$ reseptörlerinin $\alpha 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\gamma 2$ veya δ alt birimlerini (sırasıyla *GABRA1*, *GABRB2*, *GABRB3*, *GABRG2* ve *GABRD* tarafından kodlanan) kodlayan genlerdeki mutasyonlar, hafif seyirli IJE'ler ve ateşli nöbetlerden (*GABRA1* ve *GABRG2*) DS, infantil spazmlar ve Lennox Gastaut sendromuna (*GABRA1*, *GABRB2* ve *GABRB3*) kadar birçok farklı epilepsi formu ile bağlantılıdır. *GABRA1* genindeki

mutasyonlar ilk olarak JME geniş bir ailede ve daha sonra de novo çerçeve kayması mutasyonu olan çocuklukta absans epilepsili sporadik bir hastada tanımlanmıştır. Daha yeni çalışmalar, *GABRA1*'deki mutasyonların DS'ye ve diğer şiddetli epileptik ensefalopatilere de neden olabileceğini göstermiştir. Fonksiyonel çalışmalar, mutasyonların haplo yetmezlik yoluyla ve/veya yabancı tip alt birimler üzerinde dominant negatif etki yoluyla hastalığa neden olduğunu göstermektedir. Mutant alt birimleri içeren GABA_A reseptörünün azaltılmış protein stabilitesi ve yüzey ekspresyonuna bağlı olarak gözlemlenen fonksiyon kaybı, ayrıca GABA'ya karşı azalmış duyarlılık, nöronlarda inhibe edici girdilerin daha sonra azalmasına ve dolayısıyla artan uyarılabilirliğe yol açabilir (Katrine Johannesen vd., 2016).

GABA_A reseptör alt birimlerini kodlayan genlerdeki genetik varyantlar yaygındır. Birçoğu, herhangi bir spesifik fenotipe neden olmayan doğal olarak oluşan polimorfizmler gibi görünmektedir. Diğer varyantlar ise hastalık yapıcı olarak bildirilmiştir ve beyinle ilişkili bozukluklarda yaygın olarak incelenir. Bu IJE veya daha şiddetli epilepsiyle ilişkili nörogelişimsel sendromlara (örn. Erken infantil epileptik ensefalopati, EIEE19; OMIM 615744) duyarlılığa neden olan patojenik *GABRA1* varyantlarını içerir. *GABRA1* genindeki bir varyant ile epilepsi arasındaki ilk bağlantı 2002 yılında bildirilmiştir (Steudle vd., 2020).

A2 alt birimini (*GABRA2*) içeren GABA tip A (GABA-A) reseptörleri çoğu beyin bölgesinde eksprese edilir ve inhibitör sinaptik fonksiyonun modüle edilmesinde kritik öneme sahiptir. *GABRA2* lokusundaki genetik varyasyon epilepsi, afektif ve psikiyatrik bozukluklar, alkolizm ve ilaçların kötüye kullanımı ile ilişkilendirilmiştir (Mulligan vd., 2019). *GABRG2* mutasyonları, GEFS+ ile jeneralize epilepsi, absans epilepsi ve epileptik ensefalopati hastalarında bildirilmiştir (Butler vd., 2018).

GABRA1 ve *GABRD* alt birimleri olgun nöronlar tarafından ifade edilen GABA_A reseptör alt birimlerinin özellikleri üzerinde derin bir etkiye sahiptir ve bu nedenle GABA'ya yanıt olarak nöronal uyarılabilirliği etkilerler. Ayrıca beyinde sinyal devresi oluşumu için önemli bazı süreçlere katkıda bulunabilirler (Carlson & Yeh, 2011).

GABA_A reseptörünün (*GABRD*) delta alt birimini kodlayan gen başlangıçta hem JME hem de GEFS+ ile genetik epilepsi için duyarlılık aleli olarak tanımlandı. Biri GEFS+ ailesinde (p.E177A) ve diğeri (p.R220H) olmak üzere iki farklı kayıp mutasyonu

rapor edilmiştir (Dibbens vd., 2004). JME'de *GABRD* mutasyonlarının başka replikasyonu rapor edilmemiştir (Gilsoul, Grisar, Delgado-Escueta, de Nijs & Lakaye, 2019).

2.7.3.11. *SLC4A10* (Solute Carrier Family 4, Member 10) Geni

SLC4A10 geni, SLC4 gen ailesinin Na-bağılı HCO₃ taşıyıcılarının alt grubuna ait bir Na-bağımlı Cl-HCO₃ değiştirici olan *SLC4A10*'u kodlar. *SLC4A10*, çeşitli hücrelerde hücre içi pH regülasyonunda önemli rol oynar. Koroid pleksusta *SLC4A10*, epitel hücrelerinin bazolateral membranında kuvvetle eksprese edilir, bu da transepitelyal elektrolit taşınmasında ve beyin omurilik sıvısının üretiminde rol oynar (Jacobs vd., 2008).

SLC4A10, beynin koroid pleksus epitel hücrelerinin yanı sıra temel ve inhibitör nöronlarda eksprese edilen bir Na⁺ çiftli Clp/HCO₃⁻ eşanjörüdür. Şaşırtıcı bir şekilde, idiyopatik epilepsi dahil olmak üzere farklı nörolojik bozukluklar, *SLC4A10* genini kapsayan büyük genomik bölgelerin heterozigot delesyonları ile ilişkilendirilmiştir (Anne Sinning, Liebmann & Hübne, 2015).

2.7.3.12. Nöronal Nikotinik Reseptör (nAChR) Genleri (*CHRNA2*, *CHRNA4* ve *CHRNA2*)

Kolinerjik reseptörler, somatik ve otonom sinir sisteminin sinyal iletiminde işlev görür. Reseptörler, ligand asetilkolin tarafından etkinleştirildikleri için adlandırılır. Bu reseptörler, çalışmalarına katkıda bulunan ayrı aktive edici ligandlara ikincil olarak adlandırılan nikotinik ve muskarinik reseptörlere bölünmüştür. Nikotinik reseptörler agonist nikotine yanıt verirken, muskarinik reseptörler muskarine yanıt verir. İki reseptör, sırasıyla iyonotropik ligand kapılı ve G-protein bağlı reseptörler olarak işlev bakımından farklılık gösterir (Carlson & Kraus, 2018). Kolinerjik sistem, hafıza, sindirim, kalp atışının kontrolü, kan basıncı, hareket ve diğer birçok işlevde önemli rol oynayan otonom sinir sisteminin önemli bir sistemi ve bir dalıdır (Tiwari, Dwivedi, Singh, Mishra & Chandy, 2013).

nAChR'ler, asetilkolin tarafından aktive edilen, post-sinaptik uyarım ve nörotransmitter salınımı üreten bir pentamerik katyon kanalları ailesidir. İnsanlarda

nAChR'leri kodlayan on altı gen tanımlanmıştır. Dört nAChR geni, *CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA7* ve *CHRNA2* epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (Wei vd., 2017).

CHRNA4, tanımlanan ilk epilepsi genidir ve nAChR'lerin $\alpha 4$ alt birimini kodlar. $\alpha 4$ alt birimi, insan beynindeki en yaygın iki nAChR'den biri olan yüksek afiniteli ve yavaşça duyarsızlaşan heteropentamer $\alpha 4\beta 2^*$ 'nin bir bileşenidir. Bugüne kadar, nokturnal frontal lob epilepsisinde altı *CHRNA4* mutasyonu, beşi ailesel vakalarda ve biri sporadik vakalarda tanımlanmıştır. Fonksiyonel çalışmalarda mutasyonlar genellikle fonksiyon kazanımı gösterir. Otozomal dominant nokturnal front lob epilepsi ve diğer epilepsi fenotipleri vakalarında, tanımlanmamış patojeniteye sahip birkaç ek varyasyon bildirilmiştir.

CHRNA2, hem $\beta 2$ hem de $\beta 4$ alt birimleriyle heteromerik bir nAChR oluşturan $\alpha 2$ alt birimini kodlar. Bağımsız iki otozomal dominant nokturnal front lob epilepsi ailesinde iki *CHRNA2* mutasyonu (p.I279N ve p.I297F) bildirilmiştir. Fonksiyonel çalışmalarda, p.I279N mutasyonunun fonksiyon kazanımına sebep olduğu ve p.I297F mutasyonunun fonksiyon kaybedici etki gösterdiği bildirilmiştir. Son zamanlarda, BFIS olan bir ailede bir mutasyon (p.R376W) tanımlanmıştır (Aridon, P vd., 2006; Conti vd., 2015; Trivisano vd., 2015).

CHRNA2, $\alpha 4\beta 2^*$ ve $\alpha 2\beta 2\beta 4$ heteropentamerlerinin oluşturulmasına katılan $\beta 2$ alt birimini kodlar. $\beta 2$ alt biriminin kesin işlevi belirsizdir. Farelerde $\beta 2$ alt biriminin genetik olarak delesyonu, prelimbik ve infralimbik alanlarda piramidal nöronlarda dendritik omurga yoğunluğunda bir azalmaya yol açar. Otozomal dominant nokturnal front lob epilepsi hastalarında beş mutasyon ve bir IJE kohortunda farklı iki mutasyon tanımlanmıştır. Fonksiyon kazanımı, otozomal dominant nokturnal front lob epilepsi ile ilişkili üç mutasyonda (p.V287L, p.V287M ve p.L301V) saptanmıştır (Wei vd., 2017).

nAChR'ler sinapslarda hızlı sinyal iletimine aracılık eden ligand kapılı iyon kanallarının bir süper ailesinin üyeleridir. nAChR'lerin homolog alt birimlerden oluşan heteropentamerler olduğu düşünülmektedir (Kormelink & Luyten, 1997).

2.7.3.13. *EFHC1* (Ef-Hand Domain-Containing Protein 1) Geni

EFHC1 sentrozom ve N-terminalindeki mitotik iğ iplikçiklerinde lokalize olan mikrotübül ile ilişkili bir proteindir (MAP). Fonksiyon kaybı mitotik iğ organizasyonunu

bozduğu için *EFHC1*'in hücre bölünmesinde rol oynadığı bildirilmiştir. Dahası, gelişen neokortekste, akut *EFHC1* eksikliği projeksiyon nöronlarının radyal göçünü bozar (de Nijs vd., 2012). Bu protein, hareketli silyaları olan hücrelerde yüksek oranda eksprese edilir ve aksoneme boyunca ve bazal vücutta bulunur (Ikeda vd., 2003). Toplam 11 ekzondan oluşan ve 6p12.2 lokusunda bulunan *EFHC1* gen mutasyonları daha önceki birçok çalışmada JME ile ilişkilendirilmiştir (Suzuki vd., 2004).

2.8. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi

İlk kez 1977 yılında Sanger tarafından tanımlanan dideoksi nükleotid ile zincir sonlanması yöntemi ile dizileme tanımlandığından bu yana, DNA dizi analizi tıbbi araştırmalar ve genetik tanıda kullanılan en önemli teknik olmuştur (Sanger, Nicklen & Coulson, 1977). Günümüzde hala DNA dizi analizi için altın standart metod olarak kabul edilse de, okuma uzunluğunun kısalığı, sonuç verme süresi ve baz başı maliyeti gibi önemli sınırlılıkları mevcuttur (Van Dijk, Auger, Jaszczyszyn & Thermes, 2014).

Masif paralel dizileme veya yüksek verimli dizileme olarak da bilinen yeni nesil dizileme (NGS), milyonlarca DNA veya RNA dizisinin eşzamanlı dizilişine izin veren bir teknolojidir. NGS teknolojileri birinci nesil dizileme teknolojisi olarak kabul edilen geleneksel Sanger dizileme yöntemiyle karşılaştırıldığında, daha düşük maliyetle daha yüksek verim sağlar ve popülasyon ölçeğinde genom araştırmalarına olanak tanır. Geleneksel dizileme yöntemlerine kıyasla NGS'nin avantajları arasında çoklu örnek çalışabilme, düşük frekanslı varyantların tespitinde daha yüksek hassasiyet, yüksek örnek hacimleri için daha hızlı geri dönüş süresi ve daha düşük maliyet yer alır (Park & Kim, 2016).

NGS, Sanger dizileme kullanılarak ilk insan genomunun dizilenmesi uzun yıllar ve milyarlarca dolar gerektirmişti. Bununla birlikte, NGS'nin ortaya çıkmasıyla, tam bir insan genomu artık birkaç gün içinde 1.000 dolardan daha az bir fiyata dizilenebilir hale gelmiştir. NGS, laboratuvar tıbbında geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir ve hassas tıbbın bütünleşmiş bir parçası haline gelmiştir. Son yıllarda, NGS ile ilgili yayınların sayısı önemli ölçüde artmış, birçok alanda ve birçok uygulamada yeteneklerini ortaya koymuştur. Önemli uygulamalar şunları içerir: tüm genom dizileme, hedeflenmiş gen

panelleri yeni nesil dizilenmesi, de novo dizileme, tam transkriptom analizi ile gen ekspresyon analizi, küçük RNA dizileme, metilasyon analizi, proteom araştırmalarında DNA bağlayıcı proteinleri hedefleyen antikorlar tarafından ekstrakte edilen DNA dizilemesi (ChIP-Seq) ve nükleaz fragmentasyonu ve dizilenmesi. Bu uygulamalar şu anda çok sayıda alanda çalışmalar yürütmek için kullanılmaktadır: 1) yaygın ve nadir hastalıkların genetik teşhisi ve hedeflenen yeninesil dizileme ile nedensel genlerin keşfi; 2) kanser araştırması; 3) mikrobiyolojik çalışmalar; 4) atasal DNA'nın kullanımı da dahil olmak üzere evrimsel ve popülasyon çalışmaları; 5) doğum öncesi genetik tanı; 6) transkriptom çalışmaları; 7) kişisel kimlik / adli tıp; 8) metagenomik çalışmalar; 9) mitokondriyal genom çalışmaları; 10) immünoloji çalışmaları ve 11) bitki biyolojisi.

Teknoloji, yapısal bozukluklar, onkoloji ve bulaşıcı hastalıklar gibi durumlar için teşhis, prognoz ve tedavi seçiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan hastalıklarının genetik temelini belirlemek, altta yatan patolojiyi anlamak, erken tanı yapabilmek, önleme ve daha iyi tedavi seçeneklerini geliştirmek ve kapsamlı bir genetik danışma verebilmek için çok önemlidir. (Morey vd., 2013).

Sekanslama İle Saptanan Varyantların Sınıflandırılması

Genomik varyasyonun sınıflandırılması ve yorumlanması oldukça karmaşık bir disiplindir ve klinik ortamda hasta yararını en üst düzeye çıkarmak ve zararı en aza indirmek için doğruluk ve tutarlılık ihtiyacı çok önemlidir. Genomik teknolojiye devrim, hızla artan sayıda yeni hastalık geninde yeni varyantların rutin tespiti artmasına yol açtı. ACMG, 2016 yılında, şu anda ABD'de ve birçok Avrupa merkezinde yaygın olarak benimsenmiş olan varyant yorumu için ayrıntılı bir sistematik çerçeve tasarlayarak karşılaşılan zorlukları ele almaya çalıştı. Bu uluslararası kriterler bir varyantın klinik olarak önemi hakkında sınıflandırma yapmaktadır. Bu kılavuz, uzman görüşü ve ampirik verilerle bilgilendirilen kriterler kullanılarak sekans varyantlarının sınıflandırılması için güncellenmiş standartları ve yönergeleri açıklamaktadır. Sınıflandırma genel olarak patojenik-muhtemelen patojenik, klinik önemi bilinmeyen ve benign-muhtemelen benign olarak sunulur. Her patojenik kriter, çok güçlü (PVS1), güçlü (PS1-4), orta (PM1-6) ve destekleyici (PP1-5) olarak ayrılırken her benign kriter, tek başına (BA1), güçlü (BS1-4) veya destekleyici (BP1-6) olarak tanımlanır (Richards vd., 2015).

Çizelge 2.2. Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları (Richards S. 2015)

Populasyon veri tabanları	
Ekzom Agregasyon konsorsiyumu-Gnomad https://gnomad.broadinstitute.org	Bu web sitesinde sağlanan v2 veri seti (GRCh37 / hg19), çeşitli hastalığa özgü ve populasyon genetik çalışmalarının bir parçası olarak sıralanan bağımsız bireylerden 125.748 ekzom dizisini ve 15.708 tam genom dizisini kapsar.
Ekzon Varyant Sunucusu https://evs.gs.washington.edu/EVS	Avrupa ve Afrika kökenli Amerikalıların birkaç büyük kohortunun ekzom dizilimi sırasında bulunan varyantların veritabanı.
1000 genom projesi http://browser.1000genomes.org	26 popülasyondan düşük kapsamlı ve yüksek kapsamlı genomik ve hedefli dizileme sırasında bulunan varyantların veritabanı.
dbSNP http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp	Birçok kaynaktan sunulan kısa genetik varyasyonların (tipik olarak ≤ 50 bp) veri tabanı.
dbVar http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar	Birçok kaynaktan sunulan yapısal varyasyon veri tabanı (genellikle >50 bp)
Hastalıklar için veri tabanları	
ClinVar http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar	İnsan varyasyonlarının klinik önemi ve fenotip ilişkisi ile ilgili veri tabanı.
OMIM http://www.omim.org	Hastalıkla ilişkili genetik varyantların temsili bir örneklemesini de içeren insan genleri ve genetik koşullar veritabanı.
Human genome mutation database http://www.hgmd.org	Literatürde yayınlanan varyant anotasyonları veritabanı.
Lokus / Etnik / Hastalık / Diğer özel veri tabanları	
Human Genome Variation Society http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html	İnsan Genomu Varyasyon Topluluğu sitesi, insan varyasyonunun belirli alt kümeleri hakkında varyanta ek açıklamalar sağlayan binlerce veritabanından oluşan bir liste geliştirdi. Leiden Açık Varyasyon Veritabanı sisteminde büyük bir veri tabanı yüzdesi oluşturulmuştur.
Leiden Open Variation Database http://www.lovd.nl	
DECIPHER http://decipher.sanger.ac.uk	Ensembl genom tarayıcısını kullanarak genomik mikrodizin verilerini fenotipe bağdaştıran klinisyen ve araştırmacılar için moleküler bir sitogenetik veritabanı.
Sekans veri tabanları	
NCBI Genome http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome	Tam insan genom referans dizilerinin kaynağı
RefSeqGene http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg	Medikal olarak ilgili gen referans dizisi kaynağı
Locus Reference Genomic (LRG) http://www.lrg-sequence.org	
MitoMap http://www.mitomap.org/MITOMAP/HumanMitoSeq	İnsan mitokondriyal DNA'sı için revize edilmiş Cambridge referans dizisi.

Çizelge 2.3. Varyasyonlar için in siliko tahminleme araçları (Richards S. 2015)

Yanlış anlamlı varyantlar için	http://consurftest.tau.ac.il	Evrimsel korunum
	http://fathmm.biocompute.org.uk	
	http://mutationassessor.org	
	http://www.pantherdb.org/tools/csnpscoreForm.jsp	
	http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html	
	http://sift.jcvi.org	
	http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go	Protein yapısı ve fonksiyonu
	http://agvgd.iarc.fr/agvgd_input.php	Protein yapısı ve fonksiyonu, evrimsel korunum
	http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/MAPP/index.html	
	http://www.mutationtaster.org	
	http://mutpred.mutdb.org	
	http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2	
	http://provean.jcvi.org/index.php	Varyant dizisi arasındaki benzerlik ve protein dizilimi benzerliği
	http://snpanalyzer.uthsc.edu	Çoklu dizi hizalaması ve protein yapı analizi
	Condell http://bg.upf.edu/fannssdb/	SIFT, Polyphen2 ve MutationAssesör'ü birleştirir
	CADD http://cadd.gs.washington.edu	Simule varyantları ile insanlarda sabit/ neredeyse sabit türetilmiş aleller
Kesim noktasında bulunan varyantlar için	http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/index.html	Markov modelleri
	http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml	Pozisyona bağlı sonuç
	http://www.umd.be/HSF/	Maksimum entropi prensibi
	http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_sc_oreseq.html	Nöral ağlar
	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2	Nöral ağlar
	http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html	Ağırlık matrisi modeline dayanan ek terleri için türlere özgü öngörü
Nükleotid korunmuşluk tahmini	http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=fsplce&group=programs&subgroup=gfind	Genomik evrimsel oran profili
	http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/	Koruma puanlaması ve korunan unsurların belirlenmesi
	http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/	
	http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/help-pages/phyloP.txt	

ACMG Sınıflandırmasında kullanılan skorlama kriterleri

Patojenik kriterler;

1) Çok Güçlü Patojenite Kanıtı

PVS1: Fonksiyon kaybının bilinen bir hastalık sebebi olduğu durumlarda anlamsız, çerçeve kayması mutasyonları, başlama kodonu ya da birçok ekzonun delesyonudur.

2) Patojenik Etkinin Güçlü Kanıtları

PS1: Daha önce patojenik olduğu belirlenen varyantla nükleotid değişiminden bağımsız olarak aynı amino asit değişimi

PS2: Hastada bulunup aile hikâyesi olmadan de novo görülmesi.

PS3: Varyantın zararlı etkisi in vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenmekte

PS4: Varyantın etkilenen bireylerde prevelansının anlamlı derecede artması.

3) Patojenik Etkinin Orta Dereceli Kanıtları

PM1: Benign varyasyonların görülmediği hot-spot (Mutasyonların fazla gerçekleştiği sıcak bölgeler) noktalar ve kritik fonksiyonel alanlarda bulunması

PM2: Ekzon Sekans Projesi, 1000 Genom veya ExAC gibi konsorsiyumlarda düşük alel frekansı.

PM3: Çekinik hastalıklar için başka bir patojenik varyantla trans halinde tespit edilen varyant.

PM4: Protein uzunluğunun çerçeve içi delesyon ya da insersiyonla kısılması.

PM5: Daha önce patojenik olduğu belirlenen bir missense varyasyonun olduğu amino asitte olan novel bir missense varyant

PM6: Aile bilgisi öğrenilmeden de novo olarak görülen varyasyonlar.

4) Patojeniteyi Destekleyen Kanıtlar

PP1: Hastalığa neden olduğu kesin olarak bilinen bir gende birden fazla etkilenen aile üyesinde hastalıkla birlikte kümelenme

PP2: Benign yanlış anlamlı varyasyon görülme sıklığının düşük olduğu bir gende saptanan yanlış anlamlı varyant.

PP3: Birden fazla biyoenformatik algoritma tarafından gen veya gen ürünü üzerinde bulunan varyantın patojenitesini destekleyen

PP4: Hastanın fenotipi veya aile öyküsü, tek bir genetik etiyolojiye sahip bir hastalık için oldukça spesifiktir.

PP5: Güvenilir kaynaklar tarafından yakın zamanda patojenik olarak bildirilen fakat ancak laboratuvarın bağımsız bir değerlendirme yapabilmesi için kanıt yoktur.

Benign kriterleri;

1) Benign Etkinin Bağımsız Kanıtı

BA1: Ekzom Dizileme Projesi, 1000 Genom projesi veya ExAC projelerinde minör alel frekansı %5'in üzerindedir.

2) Benign Etkinin Güçlü Kanıtı

BS1: Hastalık için öngörülenden yüksek alel frekansı

BS2: Erken yaşta tam penetrasyon beklenen ve sağlıklı bir erişkin bireyde resesif (homozigot), dominant (heterozigot) veya X'e bağlı (hemizigot) olarak gözlenebilen hastalık durumu

BS3: İn vivo ve in vitro çalışmalarla protein fonksiyonu ve splaysta zararlı etkisinin gözlemlenememesi.

BS4: Bir ailenin etkilenen üyelerinde segregasyon eksikliği

3) Benign Etkiyi Destekleyen Kanıtlar

BP1: Kırpma (Truncating) varyasyonların sebep olduğu bilinen bir hastalıkta missense varyant

BP2: Tamamen penetran, dominant bir gen/hastalık için Patojenik başka bir varyantla trans halinde ya da herhangi bir kalıtım modelinde Patojenik başka bir varyantla cis halinde gözlemlenmesi

BP3: Bilinen bir işlevi olmayan, genomda bulunan tekrar bölgelerindeki çerçeve içi delesyon/insersiyonlar

BP4: Çok sayıda biyoenformatik algoritma tarafından, gen veya gen ürünü üzerinde bir etkisi olmadığını göstermesi benign varyant

BP5: Varyantın, hastalık için alternatif bir moleküler temele sahip bir vakada bulunması.

BP6: Güvenilir kaynaklar tarafından son zamanlarda benign olarak bildirilen, ancak bulguların bir laboratuvar tarafından bağımsız bir değerlendirme yapmak için uygun olmamasıdır.

BP7: Splays işlemi üzerine hiçbir etki göstermeyen ve nükleotidi çok fazla korunmayan eş anlamlı(sessiz) variant (Richards vd., 2015).



BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hastalar

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde Aralık 2018- Ekim 2019 tarihleri arasında idiyopatik jeneralize epilepsi tanısı alan 32 hasta (22 kadın, 10 erkek) dahil edilmiştir. Hastaların yaşları 17-57 arasında değişmektedir. Ortalama yaş ise ~28,9 olarak saptanmıştır.

Hasta veya ebeveynlerine çalışma ile ilgili bilgi verilerek gönüllü onam formları imzalı olarak alındı. Çalışma için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan gerekli izin belgesi 2018/25 kayıt numarası ile alındı.

3.1.1 Hasta Seçimi

Olguların detaylı anamnezleri alınmış olup, fizik muayene bulguları, laboratuvar bulguları, özgeçmiş bilgileri, soygeçmiş bilgileri ve aile ağaçları standard bir forma kaydedilmiştir. Idiopatik jeneralize epilepsi hasta değerlendirme formu oluşturularak bütün hastalar için form doldurulmuştur (EK-1).

Olguların çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- i. IJE tanısı almış olmak
- ii. Herhangi bir ek nörolojik bulgusu bulunmaması
- iii. Çalışmaya katılmak için gönüllü olmak ve gönüllü olur formunu doldurup imzalamış olmak.
- iv. 16-60 erişkin yaş aralığında bulunması

Olguların çalışmaya dahil edilmeme kriterleri;

- i. Hastalarda akrabalık ilişkileri bulunması
- ii. Epilepsi öykülerinde travmatik bulguların olması
- iii. Klinik olarak bilinen bir sendrom veya hastalığa uymayan bulguları olması
- iv. Hastalarda entelektüel yetersizlik ve majör konjenital anomali bulunması

3.2. YÖNTEM

Çalışmanın laboratuvar basamağı Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışma esnasında kullanılan yöntemler sırasıyla aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1. Periferik kandan DNA eldesi ve konsantrasyon ölçümü

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde idiyopatik jeneralize epilepsi tanısı konulan hastalardan alınan 2 ml. periferik kan örneklerinden genomik DNA eldesi, EZ1 DNA Blood izolasyon kiti ile çalışan EZ1 Advanced XL otomatik nükleik asit izolasyon cihazında üreticinin protokolüne göre gerçekleştirildi. Elde edilen genomik DNA (gDNA)'nın final hacmi 100 ul olacak şekilde ayarlandı. DNA materyallerinin kalite ölçümleri açısından konsantrasyonları ve saflık değerleri NanoDrop cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. DNA'ların saflık dereceleri açısından 260/280 oranı 2'den büyük olanlar ve konsantrasyonları 20 ul/ng'ın altında olanlar için izolasyon işlemi tekrar edildi. İzolasyon sonrası diğer aşamalarda kullanılmak üzere her bir DNA'ya hasta hakları ve etik değerler göz önünde bulundurularak özel laboratuvar kodları verildi ve DNA'lar -20 °C'lik derin dondurucuda uygun şartlar muhafaza edildi.

3.1.2. Hedeflenmiş Gen Panelinin Hazırlanması

İdiyopatik jeneralize epilepsi ve genetik etiyojisi hakkında bilgi içeren ilgili veri tabanlarının ve literatür taramasının sonucunda, İJE ile ilişkili olduğu düşünülen toplam 18 gen çalışmaya dahil edildi. Çalışmada ilgili genlerin kodlama yapan tüm ekzon bölgeleri ile tüm ekzon/intron splay bölgelerini kapsayacak şekilde primerlerin

tasarlanmış olmasına dikkat edildi. Çalışmaya dahil edilen genler: iyon kanalları alt ünitelerini kodlayan *CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA2*, *CLCN2*, *GABRA1*, *GABR2*, *GABRD*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN9A* ve IJE ile ilişkili/aday olabileceği belirlenen *EFHC1*, *SLC2A1*, *SLC4A10*, *TBC1D24* genleriydi. Bu genlere özgü tasarlanan Qiaseq Targeted DNA Custom Paneli kullanılarak çalışmamızı yaptık. Çalışılan 18 gene ait kanonik transkriptleri, transkript ID ve ekzon sayıları Çizelge 3.1’de verilmiştir.



Çizelge 3. 1. Çalışılan genler ve transkript bilgileri

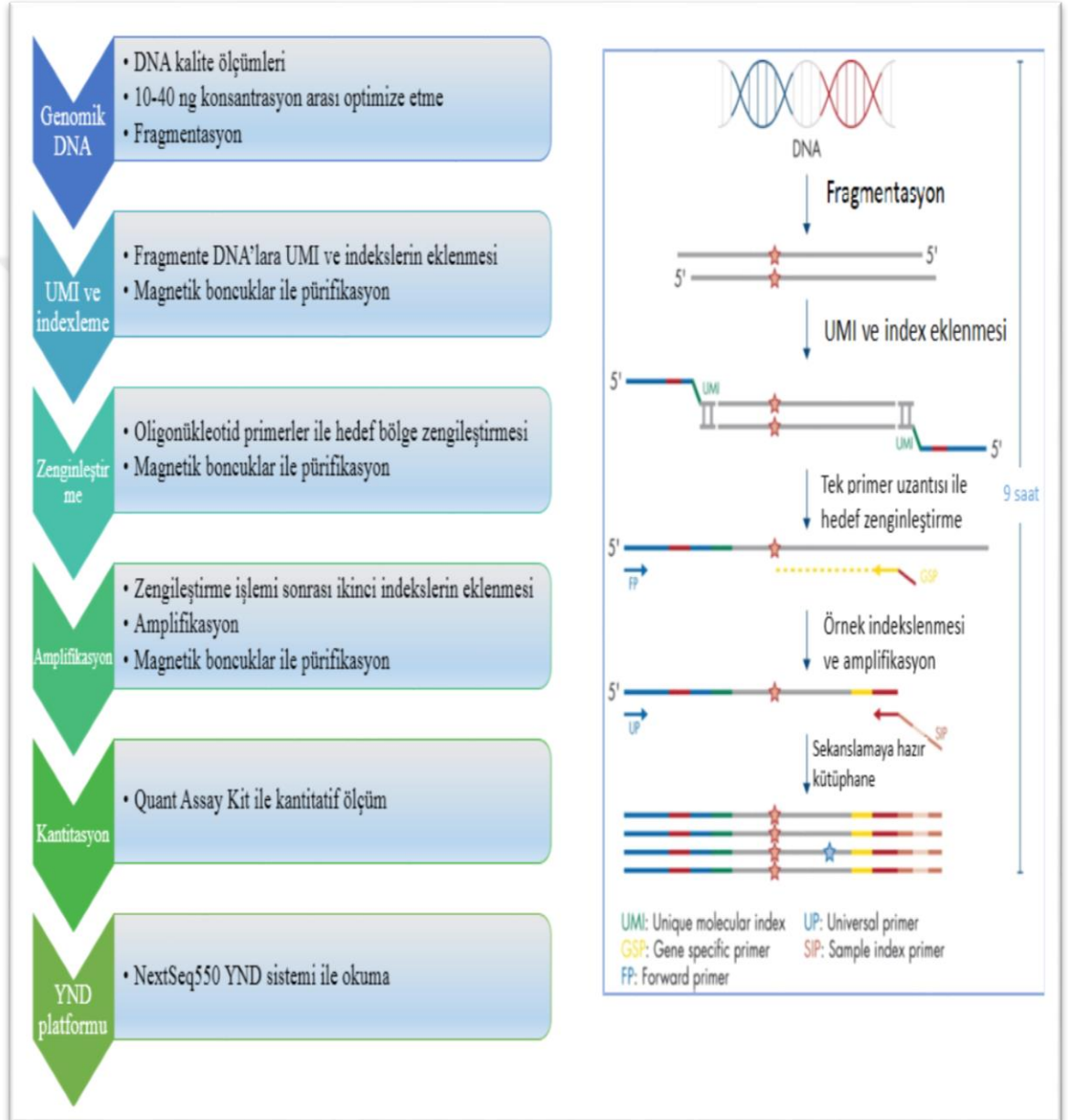
Gen	Gen Tanımı	Transkript ID	Exon Sayısı
CHRNA2	Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide 2	ENST00000407991.3	7 Exon
CHRNA4	Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Alpha Polypeptide	ENST00000370263.9	6 Exon
CHRNA2	Cholinergic Receptor, Neuronal Nicotinic, Beta Polypeptide 2	ENST00000368476.4	6 Exon
CLCN2	Chloride Channel 2	ENST00000265593.9	24 Exon
GABRA1	Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-1; Gabra1	ENST00000393943.10	10 Exon
GABRA2	Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Alpha-2	ENST00000381620.9	10 Exon
GABRD	Gamma-Aminobutyric Acid Receptor, Delta	ENST00000378585.7	9 Exon
KCNQ2	Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily Member 2	ENST00000359125.6	17 Exon
KCNQ3	Potassium Channel Voltage-Gated Kqt-Like Subfamily Member 3	ENST00000388996.10	15 Exon
KCNT1	Potassium Channel, Subfamily T, Member 1	ENST00000371757.7	31 Exon
SCN1A	Sodium Channel, Neuronal Type I, Alpha Subunit	ENST00000674923.1	29 Exon
SCN1B	Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Beta Subunit	ENST00000262631.11	6 Exon
SCN2A	Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Alpha Subunit	ENST00000375437.7	27 Exon
SCN9A	Sodium Channel, Voltage-Gated, Type IX, Alpha Subunit	ENST00000642356.2	27 Exon
EFHC1	Ef-Hand Domain (C-Terminal)-Containing Protein 1	ENST00000371068.11	11 Exon
SLC2A1	Solute Carrier Family 2 (Facilitated Glucose Transporter Member 1)	ENST00000426263.10	10 Exon
SLC4A10	Solute Carrier Family 4 (Sodium Bicarbonate Transporter-Like), Member 10	ENST00000446997.6	27 Exon
TBC1D24	Tbc1 Domain Family, Member 24	ENST00000646147.1	8 Exon

3.1.3. Hedef genlere ait kütüphanelerin oluşturulması

Çalışmamızda sekanslanmasını hedeflediğimiz genlerin kütüphanelerinin elde edilmesi için izole edilen genomik DNA'lar kullanılarak 'Qiaseq Targeted DNA Custom Panel' yöntemi kullanıldı. Yöntemin iş akış şemaları Şekil 3.1'de verilmiştir. Hastalara ait periferik kan örneklerinden elde edilen genomik DNA'ların konsantrasyonları, kütüphaneler oluşturulmadan önce Qubit dsDNA HS Assay kiti (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak Qubit 4 florometre (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri) cihazında tekrar ölçüldü.

3.1.3.2. Qiaseq Yöntemi İle Kütüphane Oluşturulması

Qiaseq yöntemi ile kütüphane oluşturulmasının beş ana basamağı ve sonrasında gerçekleştirilen kütüphane kantitasyonu Şekil 3.1’de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Qiaseq hedefli DNA panellerinin iş akışı şeması

Genomik DNA ve Fragmentasyon:

1. DNA kalite ölçümleri Qubit ile yapıldı. Örneklerin konsatrasyonu 10-40 ng aralığında ayarlandı. 16.75 µl DNA PCR tüpüne eklendi
2. DNA fragmentasyonu için 2,5 µl 10X Fragmentasyon Buffer, 0,75 µl FERA solüsyonu ve 5 µl Fragmentasyon Enzimi ile hazırlanan reaksiyon karışımı DNA üzerine eklendi.
3. Thermal cycler'ın ısısı +4 °C'ye getirildi ve tüpler cihaza yerleştirildi. PCR başlatıldı. Fragmentasyon PCR koşulları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. DNA Fragmentasyon PCR Protokolü

4 °C	32 °C	72 °C	4 °C
1 Dakika	24 Dakika	30 Dakika	1 Dakika

UMI ve Index Eklenmesi:

1. PCR bitiminde örnekler +4 °C soğuk blok üzerine alındı.
2. Bu aşamada fragmente DNA'ya UMI (Unique Molecular Index) ve IL-N7## Index işaretlenmesi gerçekleştirilmektedir. Örneklerin üzerine Çizelge 3.3'te belirtilen miktarlarda ilgili komponentler ilave edildi. Ardından örnekler kısa süreli vorteks-spin yapıldı ve PCR cihazına yerleştirildi. PCR cihazında 20 °C'de 15 dakika işleme tabi tutuldu.

Çizelge 3.3. UMI ve indeksleme PCR karışımı hazırlanması

Adaptör Ligasyonu	
Komponent	Hacim
Fragmente DNA miks	25 µl
5x Ligasyon Buffer	10 µl
ILN7## adaptörü	2,8 µl
DNA Ligaz	5 µl
Ligasyon solüsyonu	7,2 µl
Toplam	50 µl

UMI ve indekslerle bağlanmış DNA'nın temizlenmesi

3. İndexlenmiş DNA parçalarının temizlenmesi amacıyla QIAseq Bead'ler (Magnetik boncuk) ile kullanıldı.
4. PCR cihazından alınan 50 µl hacimdeki örnekler 1.5 ml'lik DNA Lobind tüplere aktarıldı. Üzerlerine hacmi kadar (50 µl) nukleaz içermeyen su ve 100 ul QIAseq Bead eklendi. Pipetaj yapılarak homojen şekilde karıştırıldı. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildikten sonra 10 dakika magnetik stand üzerine bekletildi.
5. Magnetik boncuklara bağlanan örneklere dokunmadan dipte toplanan süpernatant atıldı.
6. Magnetik stand üzerinde bulunan aynı tüplere 200 µl %80'lik ethanol eklendi. Lobind tüp magnetik stand üzerinde hafifçe döndürülerek boncukların yıkanması sağlandı. Ardından süpernatant atıldı.
7. 9. aşama bir kez daha tekrarlandı ve magnetik stand üzerinde iken oda ısısında alkolden arındırmak için tamamen kurumaya bırakıldı.
8. Magnetik boncuklar alkolden uzaklaştıktan sonra tüplere 52 µl nukleaz içermeyen su eklendi ve pipetajla karıştırıldı. Örnek tüpleri magnetik stand üzerine yerleştirildi ve süpernatant tamamen berraklaşana kadar bekletildi.

9. Tüpte toplanan 50 µl süpernatant yeni bir lobind tüp içerisine alındı. Üzerine 50 µl QIAseq Bead eklendi ve pipetaj yapıldı. Önce oda ısısında 5 dakika ardından magnetik stand üzerinde 5 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. Magnetik boncuklara bağlanan örneklere dokunmadan berrak olan süpernatant atıldı.
11. Magnetik stand üzerinde bulunan bu tüplere 200 µl %80 'lik ethanol eklendi. Lobind tüp magnetik stand üzerinde 90 C°'lik açılarla sağa-sola döndürülerek boncukların yıkandı ve ardından süpernatant atıldı.
12. 11. aşama tekrarlandı.
13. Lobind tüpteki alkolü tamamen uzaklaştırmak için 10 dakika oda ısısında bekletildi.
14. Magnetik standta bulunan tüplere 12 µl nukleaz içermeyen su eklendi ve magnetik boncuklarla birlikte pipetaj yaparak karıştırıldı. Süpernatant berraklaşana kadar magnetik stand üzerinde bekletildi. Daha sonra 9,4 µl süpernatant temiz bir PCR tüpüne aktarıldı.

Hedef Zenginleştirme:

1. Üçüncü aşama olan ilgili genleri içeren sentetik oligonükleotidler ile hedef zenginleştirme aşamasına geçildi.
2. Hedef zenginleştirme reaksiyon miks hazırlanması ve PCR koşulları sırasıyla Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Hedef zenginleştirme reaksiyon karışımı hazırlanması

Hedef Zenginleştirme	
Komponent	Hacim
Hedef kütüphane	9,4 µl
5x TEPCR Buffer	4 µl
QIASEQ Targeted DNA Panel (Sentetik oligonükleotid miks)	5 µl
IL Forward Primer	0,8 µl
HotStar Taq DNA Polymerase	0,8 µl
Toplam	20 µl

Çizelge 3.5. Hedef zenginleştirme PCR koşulları

Denatürasyon							
95 °C	98 °C	98 °C	68 °C	72 °C	4 °C	4 °C	
13 Dakika	2 Dakika	15 Saniye	10 Dakika	5 Dakika	5 Dakika	∞	
		8. Döngü		1 Döngü			

3. PCR bitiminden sonra tüm PCR ürünü, 1.5 ml’lik Lobind tüpe alındı. Üzerine 80 µl nukleaz içermeyen su ve 100 µl QIAseq Bead eklendi ve pipetajla karıştırıldı.
4. Oda ısısında 5 dakika inkubasyon sonrası, magnetik standta 5 dakika magnetik beadlerin ayrıştırıldı. Berraklaşan süpernatant atıldı.
5. Magnetik stand üzerindeki lobind tüplere %80 ‘lik ethanolden 200 µl eklendi. Tüpler stand üzerinde 2-3 kez döndürülerek magnetik boncuklar yıkandı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlem 1 kez daha tekrarlandı.
6. Magnetik stand üzerindeyken 10 dakika tüm alkolün uzaklaştırılması sağlandı.
7. Tüplere 16 µl nukleaz içermeyen su eklendi. Hafifçe pipetajla karıştırıldı. Tüpler tekrar magnetik standta konuldu.

Amplifikasyon aşaması:

1. Universal PCR amplifikasyon aşaması, içerisinde liyofilize halde, birbirinden farklı IL-S5## Index’ler içeren strip tüplerde gerçekleştirildi.
2. Toplam 13,4 µl berraklaşan süpernatant tüplerden alınarak her bir hastaya ait süpernatant farklı bir strip kuyuya konuldu. Universal PCR amplifikasyon reaksiyon miksi hazırlanması ve PCR koşulları sırasıyla Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Universal PCR Amplifikasyon Reaksiyon karışımı hazırlanması

Amplifikasyon (Universal PCR)	
Komponent	Hacim
Temizlenen hedef zenginleştirilmiş DNA	13,4 µl
5x UPCR Buffer	4 µl
HotStar Taq DNA Polymerase	1 µl
Nükleaz içermeyen su	1,6 µl
Toplam	20 µl

Çizelge 3.7. Universal PCR Amplifikasyon Koşulları

Denatürasyon						
95 °C	98 °C	98 °C	60 °C	72 °C	4 °C	4 °C
13 Dakika	2 Dakika	15 Saniye	2 Dakika	5 Dakika	5 Dakika	∞
		20 Döngü		1. Döngü		

3. PCR ürünü 1.5 ml'lik Lobind tüpe aktarıldı. 80 µl nükleaz içermeyen su ve 100 µl QIAseq Bead eklendi. Pipetaj ile homojenize edildi.
4. 5 dakika oda ısısında ve ardından 5 dakika magnetik standta inkubasyona bırakıldı. Magnetik beadler ayrıştıktan sonra berraklaşan süpernatant atıldı.
5. Magnetik boncukların üzerine 200 µl %80 'lik ethanol koyuldu. Tüpler stand üzerinde 2-3 kez döndürülerek magnetik boncuklar yıkandı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlem 1 kez daha tekrarlandı.
6. Magnetik stand üzerindeyken 10 dakika tüm alkolün uzaklaştırılması sağlandı.
7. Tüplere 32 µl nükleaz içermeyen su konularak magnetik boncuklar hafifçe pipetajla homojenize edildi. Tüpler tekrar magnetik standta alındı. Amplifikasyon ürünlerini içeren ve berraklaşan süpernatanttan 28 µl alınarak yeni PCR tüpüne aktarıldı.

8. Hazırlanan kütüphaneler 0,2 µl'lik PCR tüpü içerisinde -20 °C buzdolabında saklandı.

Kütüphane Kantitasyonu:

1. Hazırlanan kütüphanenin kantitasyonu QIAseq Library Quant Assay Kiti kullanılarak Rotor Gene Real Time PCR cihazında gerçekleştirildi.
2. Kütüphane örnekleri, 1/50'lik, 1/5000'lik ve 1/50.000'lik dilüsyon serileri şeklinde seyreltilti.
3. Kit içerisinde bulunan ILM DNA standartı için de 5 adet seri dilüsyon hazırlandı.
4. PCR mixi SYBR Green boya kullanılarak hazırlandı. SYBR Green PCR mix hazırlığı Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. SYBR Green PCR Mix Bileşenleri

SYBR Green PCR Karışımı	
Komponent	Hacim
Primer mix (10 µM)	0,8 µl
SYBR Green ROX <u>Fast Mastermix</u>	10 µl
Nükleaz içermeyen su	6,7 µl
Toplam	17,5 µl

5. Tüplere 17,5 µl SYBR Green PCR mix dağıtıldı ve her bir tüpe 2,5 µl dilue standartlardan sırasıyla 3'er tekrar olarak koyuldu. Ardından 3 tekrar da NTC (Non Template kontrol- Su kontrol) eklendi.

6. 1/5000 ve 1/50.000 şeklinde dilue edilen kütüphaneler sırasıyla eklendi ve RotorGene RealTime PCR cihazına yüklendi. Real-Time PCR Protokolü Çizelge 3.9'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Real-Time PCR Protokolü

95°C	95°C	68°C	65°C	60°C
10 Dakika	15 Saniye	5 Saniye	5 Saniye	60 Saniye*
1 Döngü	30 Döngü			
* 30. Döngü sonunda floresans ısıma için veri toplanmaktadır.				

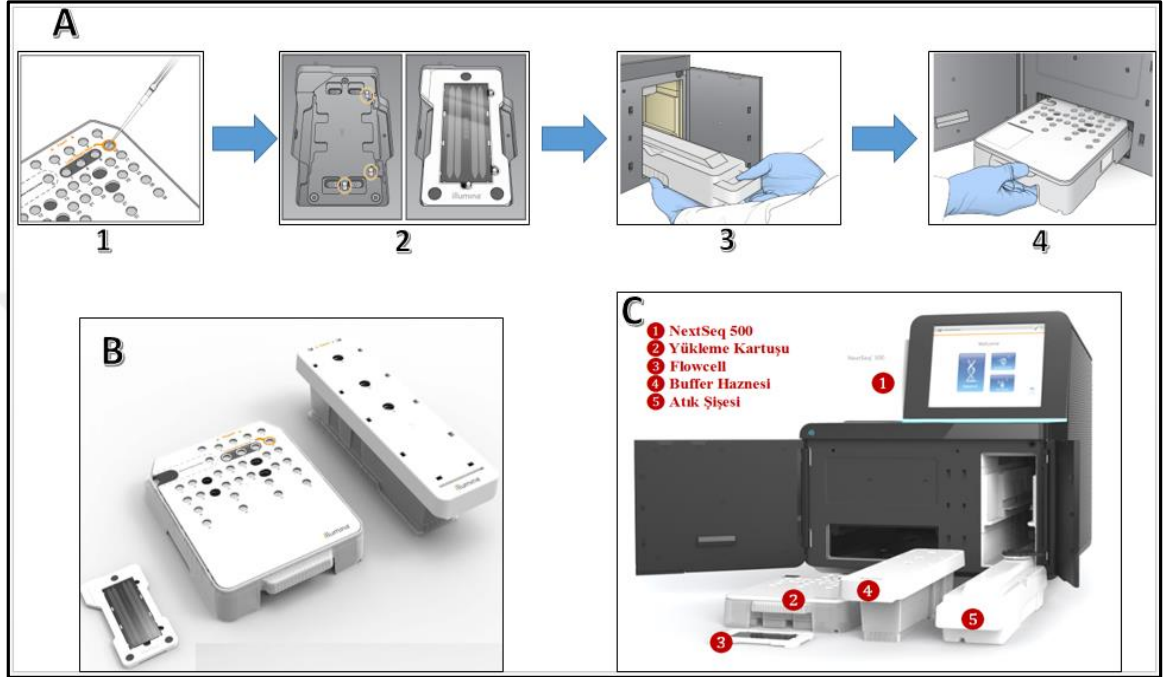
7. PCR sonrası cihazın ‘Green’ kanalından analiz gerçekleştirildi ve dilue edilen örneklerle ait CT (threshold cycle, reaksiyona girdiği döngü) değerleri kaydedildi. Elde edilen CT Nanomolar (nM) cinsine dönüştürülerek kütüphanelerin kantitasyonu tamamlandı.

3.1.4. Yeni Nesil Dizi Analizi Cihazına Kütüphanelerin Yüklenmesi

3.1.4.1. Qiaseq Panel İle Hazırlanan Örneklerin Dizilenmesi

- Dizilenmeye hazır örnek kütüphaneleri, kartuşa nükleaz içermeyen su kullanılarak yükleme konsantrasyonu olan 4 nM’e indirildi.
- 4 nM konsantrasyona indirilen her bir örnekten 5’er µl alınarak tek bir tüpte ortak kütüphane hazırlandı.
- Kütüphanenin denatürasyonu amacıyla NaOH kullanıldı. 0,2 N NaOH’e hazırlandı.
- 4 nM örnekten 5 µl ve 0,2 N NaOH’den 5 µl pipetaj ile karıştırıldı, 5 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- Kütüphanenin denatürasyonunu sonlandırmak için üzerine pH 7’ı olan 200 mM Tris HCL (Hidroklorik Asit)’den 5 µl eklendi.
- Eppendorf tüpe 985 µl Hibridizasyon Buffer (HT1) eklendi ve içerisine 15 µl örnek (5 µl 4nM kütüphane + 5 µl 0,2 N NaOH + 5 µl 200mM TrisHCL) eklendi ve pipetaj yapılarak 20 pM kütüphane hazırlandı.
- Yeni bir eppendorf tüp üzerine 1203 µl Hibridizasyon Buffer (HT1) eklendi ve 20 pM kütüphaneden 97 µl eklendi ve pipetajla karıştırıldı.
- Kütüphane yüklenmesi aşamasında, temiz bir 1,5ml’lik eppendorf tüpe 1994 µl HT1 ve 6 µl 100 µM Read 1 Primer eklendi ve homojen bir şekilde karıştırıldı. NextSeq kartuşunda 7. pozisyondaki kuyucuğa tamamı aktarıldı.

- 1,5 pM olarak hazırlanan örneğin tüm hacmi NextSeq kartuşunda 10. pozisyondaki kuyucuğa yüklendi.
- NextSeq Flowcell, NextSeq kartuşu, NextSeq Buffer kartuşu ve atık kutusu NextSeq500 cihazına yerleştirilerek (Şekil 3.2) dizileme işlemi başlatıldı.



Şekil 3.2. NextSeq 550 sistemi (A1- Örnek yükleme A2- Flowcell ve cihaz üzerindeki flowcell yuvası görüntüsü A3- Buffer kartuşunun cihaza yerleştirilmesi A4- Reaktif kartuşunun cihaza yerleştirilmesi B- NextSeq 500 kartuş formatı görüntüsü C- NextSeq 500 Cihazı ve reaktifler)

3.1.5. Biyoinformatik Analiz (Verilerin Değerlendirilmesi)

Yeni nesil dizileme sonrasında ilgili genlerin hedeflenmiş dizilerini ve kalite skorlarını içeren bir metin formatında olan FastQ ham veri dosyaları elde edildi. FastQ dosyalarından dönüştürülen analize hazır human genome (hg19) referans dizisine hizalanmış olan bam dosyaları, biyoinformatik analizi için Qiagen Ingenuity Variant Analysis (IVA) ve Qiagen Clinical Insight (QCI) yazılımları kullanıldı. Ayrıca hedeflenen genlerin nükleotid dizilimlerinin görsel olarak incelenmesi amacıyla IGV (Integrative Genomics Viewer- Broad Institute) programı kullanıldı. Qiagen Ingenuity Variant Analysis (IVA) ve Qiagen Clinical Insight (QCI) yazılımları kalite skorlamaları ve belirli

filtrelemelerden başarıyla geçen genetik varyasyonların tespit edilmesi, patojenitesinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı. Varyantların filtrelenmesinde, sinonim varyantların filtrelenmesi ve ExAC, GenomAD, dbSNP gibi açık erişimli veri tabanları ve populasyon bilgi bankalarında IJE insidansı da dikkate alınarak minör alel sıklığı (MAF) %1'in üstünde olan varyantlar filtrelendi. Saptanan genetik varyasyonların ve patojenitesinin IJE ile ilişkili olup olmadığını değerlendirmek amacıyla faydalanılan açık erişimli çevrimiçi veri tabanları; HGMD (Human Genom Mutation Database), NCBI (National Center for Biotechnology Information) , dbSNP (Single Nucleotide Polymorphism Database), VarSome (The Human Genomics Community) ve Franklin by Genoox araçlarıdır. In siliko tahminleme algoritmaları olarak; Mutation Taster, PolyPhen (Polymorphism Phenotyping v2), SHIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), DANN skorlaması (Patojenite skorlama metodolojisi), GERP (genomic evolutionary rate profiling score) ve CADD Skorlaması (Combined Annotation Dependent Depletion) verileri dikkate alınmıştır.

3.1.6. Saptanan varyantların Sanger Sekans Yöntemi Doğrulanması ve Segregasyon Analizleri

Doğrulama ve segregasyon analizi için hastanın her iki ebeveyninden ve varsa sağlıklı kardeşten alınan periferik kan örneklerinden gDNA'lar elde edildi. Uygun oligonükleotid primerlerin tasarımı Ensemble veri tabanı, FastPCR (PrimerDigital Ltd, Finland) ve PerlPrimer (owenjm) programlarından faydalanılarak gerçekleştirildi. Varyasyon bölgeleri uygun primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı ve %2'lik Agaroz jelde PCR amplifikasyonlarına ait bantlar görüntülendi. PCR amplikonlarının pürifikasyon işlemi ExoSap-IT (ThermoFischer Scientific, ABD) ile gerçekleştirildikten sonra Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit v3.1 (ThermoFischer Scientific, ABD) ile Forward ve Reverse sekans spesifik PCR'ları yapıldı. Sefadex ve spin kolon ile pürifikasyonları gerçekleştirildi (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Saflaştırılmış örnekler Applied Biosystems ABI 3130XL (ThermoFischer Scientific, ABD) sekans cihazında dizilendi. Cihazdan elde edilen nükleotid dizi verileri, Chromas ve BioEdit yazılım programında görüntülenerek analiz işlemleri yapıldı.

3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN MATERYALLER

3.2.1. Sarf Malzemeler ve Cihazlar Listesi

Çalışmada kullanılan sarf malzemeler Çizelge 3.10’da, NGS’da kullanılan hedefli yeni nesil dizi analizi gen panellerinin içeriği Çizelge 3.11 ve laboratuvarında kullanılan cihazlar Çizelge 3.12’de verilmiştir.

Çizelge 3.10. Sarf Malzeme Listesi

EZ1 DNA Blood izolasyon kiti (Qiagen, Hilden, Almanya)
0.2 ml PCR Tüpü (Axygen Biosciences, Union City, Amerika Birleşik Devletleri)
1.5 ml LoBind Tüpü (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
Qubit dsDNA High Sensitivity Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
Qubit Assay Tüp (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
%99.9 Ethanol (Isolab)
15 ml’lik Falkon Tüp (Isolab)
50 ml’lik Falkon Tüp (Isolab)
NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5 (300 Cycles) (Flowcell, Buffer, Kartuş) (Illumina, Cambridge, İngiltere)
Distile Su (Qiagen, Hilden, Almanya)
Qiaseq (Targeted DNA Sequencing) Paneli (Qiagen, Hilden, Almanya)

Çizelge 3.11. Qiaseq (Hedefli Gen Paneli Yeni Nesil DNA Dizileme) Panel Komponentleri (Qiagen, Hilden, Almanya)

Fragmantasyon Buffer, 10X
Fragmantasyon Enzim Mix
FERA Solusyonu
Ligation Buffer, 5X
DNA Ligaz
Ligasyon Solusyonu
TEPCR Buffer, 5X
UPCR Buffer, 5X
HotStar Tag DNA Polimeraz
QIAseq Purifikasyon Bead
Nuklease Free Su
İlgili Genlere Özel Primerleri İçeren Custom Probe
IL-N7## Index Adaptor

IL-S5## Index Adaptor
IL-Forward Primer
QIAseq A Read 1 Primer
1.5 ml LoBind Tup
0.2 ml PCR tüp
Qubit Assay Tüp
15 ml'lik Falkon Tüp
50 ml'lik Falkon Tüp
%99.9 Ethanol
Qubit dsDNA High Sensitivity Assay Kit
QIAseq™ Library Quant Assay Kit (Catalog no. 333314)

Çizelge 3.12. Çalışmada Kullanılan Cihaz Listesi

EZ1 Advanced XL Otomatik Nükleik Asit İzolasyon Cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya)
NanoDrop (Nanodrop 2000C, Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
Vorteks (LMS, Tokyo, Japan)
Santrifüj (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
Single-Channel Pipetler (0,2-10ul / 2-20 ul / 20-100 ul/ 100-1000ul) (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
Multi-Channel Pipet (2-20 ul) (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
DynaMag -2 Magnet (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
DynaMag-96 Side (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
+4°C Soğuk Blok (Qiagen, Hilden, Almanya)
Sensquest Thermal Cyclers (PCR Cihazı) (Labcycler, Hilden, Almanya)
Applied Thermal Cyclers (PCR Cihazı) (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
QIAgility (Qiagen, Hilden, Almanya)
Real-Time PCR (Qiagen, Rotor-Gene Q, Almanya)
NextSeq™ 550 Sequencing System (Illumina, Cambridge, İngiltere)
Applied Biosystem 3130 XL Sanger Sekans dizileme Cihazı (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmaya toplam 32 İJE klinik ön tanısı konulan hasta dahil edildi. Hastalar cinsiyet dağılımları açısından, 22 (% 68.75) kadın ve 10 (% 31.25) erkekten oluşmaktadır. Hastaların yaşları ise 17 ile 57 arasında değişmekteydi. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 28,9 olarak saptandı. İJE ve genetik etiyolojisi hakkında bilgi içeren ilgili veri tabanlarının ve literatür taramasının sonucunda, İJE ile ilişkili olduğu düşünülen toplam 18 gen çalışmaya dahil edildi. Bu genler iyon kanalları alt ünitelerini kodlayan *CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA2*, *CLCN2*, *GABRA1*, *GABR2*, *GABRD*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN9A* ile İJE'yle ilişkili veya aday olabileceği öngörülen *EFHC1*, *SLC2A1*, *SLC4A10*, *TBC1D24* genleriydi. Çalışmada ilgili genlerin ekzon bölgelerinin ve ekzon/intron splays bölgelerinin kapsanacak şekilde dizilenmesine dikkat edildi. Bu genlere özgü tasarlanan 'Qiaseq Targeted DNA Custom Panel' kullanılarak örneklere ait NGS kütüphaneleri hazırlandı ve çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilen 32 hastadan JENGs-32 numaralı hastanın nörolojik muayenesinde, Marfan Sendromu şüphesi nedeniyle hastanın bu yönde klinik takibine karar verildi. Bu sebeple hastaya ait NGS çalışma sonuçları çalışmada sunulan NGS verilerinden çıkarılmıştır.

Hastalık başlangıç yaşlarına bakıldığında, hastalık başlama yaşı en erken 8 yaş, en geç ise 34 yaştı. Üç hastaya ait hastalık başlangıç yaşı ise saptanamadı. Hasta grubundaki kişilere ilişkin yaş, hastalık başlangıç yaşı ve cinsiyet dağılımı Çizelge 4.1'de yer almaktadır.

Çizelge 4. 1. Hasta grubundaki kişilere ilişkin yaş, hastalık başlangıç yaşı ve cinsiyet dağılımı

No	Proje No	Doğum Yılı	Başlangıç yaşı	Cinsiyet
1	JENGs-1	2003	14 yaş	K
2	JENGs-2	1963	8 yaş	E
3	JENGs-3	1995	15 yaş	K
4	JENGs-4	1992	21 yaş	K
5	JENGs-5	1998	16 yaş	E
6	JENGs-6	1986	17 yaş	K
7	JENGs-7	2000	10 yaş	E
8	JENGs-8	1995	15 yaş	E
9	JENGs-9	1998	15 yaş	K
10	JENGs-10	1963	16 yaş	E
11	JENGs-11	1979	17 yaş	K
12	JENGs-12	1998	15 yaş	E
13	JENGs-13	1996	13 yaş	K
14	JENGs-14	1997	17 yaş	K
15	JENGs-15	1989	14 yaş	K
16	JENGs-16	1991	15 yaş	K
17	JENGs-17	1973	34 yaş	K
18	JENGs-18	1990	10 yaş	K
19	JENGs-19	1997	16 yaş	E
20	JENGs-20	1998	8 yaş	K
21	JENGs-21	1989	18 yaş	K
22	JENGs-22	2003	16 yaş	E
23	JENGs-23	1970	---	K
24	JENGs-24	1974	12 yaş	K
25	JENGs-25	1984	---	K
26	JENGs-26	1983	18 yaş	K
27	JENGs-27	2001	---	K
28	JENGs-28	1999	14 yaş	K
29	JENGs-29	2001	13 yaş	K
30	JENGs-30	2001	15 yaş	E
31	JENGs-31	2000	13 yaş	K
32	JENGs-32	1996	18 yaş	E

(K: Kadın, E: Erkek)

JENGs23, JENGs25 ve JENGs27 numaralı hastaların hastalık başlangıç yaşlarına hasta kayıtlarından ulaşamadı.

Hastaların 19’unda elektroensefalografi (EEG) sonuçlarına göre anomali saptanmıştır (%59,3). Hastalardan sadece JENGs7’de manyetik rezonans (MR) sonucunda sağ serebellar hemisferde venöz malformasyon saptanmış, diğer hastaların MR

sonuçları normal olarak değerlendirilmiştir. Hastaların 17'sinde ailede ve yakın akrabalarında nöbet öyküsü bulunmazken, 15 hastanın ailesinde nöbet öyküsü vardı (%53). 4 hastada IJE açısından risk oluşturan bir faktör mevcuttu (%12,5).

Hastalardan 16'sında IJE sendrom tipi JME (%50), 5'inde JTKN (%16,6) olarak saptandı. Diğer 11 hastanın sendrom tipi bilgileri Çizelge 4.3'te verildi. 14 hastada nöbet tipi TK, MK (%43,75) olarak değerlendirildi. 18 hastaya ait nöbet tipi bilgileri Çizelge 4.3'te verildi. Hastalardan 17'si son bir yıl içerisinde nöbet geçirmemişti (%53), 10'u ayda birden az nöbet geçirmişti (%31) ve 5'i ayda birden fazla nöbet öyküsüne sahipti (%15,6).

Çalışmaya alınan hastaların klinik verileri; epileptik nöbet tipi, sendrom tipi, son 1 yıldaki nöbet sıklığı, EEG bulguları, tıbbi kayıt, akrabalık öyküsü ve diğer risk faktörleri ile ilgili bilgiler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde değerlendirildi (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 2. Çalışmaya dahil edilen hastalara ilişkin EEG bulguları, tıbbi kayıt bilgileri, akrabalık bilgileri, risk faktörleri

No	Proje No	EEG bulguları, tıbbi kayıt	Akrabalık öyküsü	Risk Faktörleri
1	JENGs-1	Yok	Abla ve kuzende nöbet öyküsü	Doğumda kordon dolanması öyküsü
2	JENGs-2	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
3	JENGs-3	Yok	Var	Yok
4	JENGs-4	EEG'de IJE anomalisi	Dedesinin kardeşinde nöbet öyküsü	Yok
5	JENGs-5	Yok	Bilgi yok	Yok
6	JENGs-6	EEG'de IJE anomalisi	Annesinin teyzesinde nöbet öyküsü	Yok
7	JENGs-7	MR'da -sağ serebral hem. Venöz malformasyon şüphesi	Kuzeninde nöbet öyküsü	Yok
8	JENGs-8	EEG'de IJE anomalisi	Teyzesinde nöbet öyküsü	Yok
9	JENGs-9	Yok	Babasında nöbet öyküsü	Yok
10	JENGs-10	Yok	Kızında nöbet öyküsü	Yok
11	JENGs-11	Yok	Ablasında nöbet öyküsü	Yok
12	JENGs-12	EEG'de IJE anomalisi	Yok	3 kez febril konvülsiyon öyküsü
13	JENGs-13	Yok	Yok	Yok
14	JENGs-14	Yok	Yok	Yok
15	JENGs-15	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
16	JENGs-16	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
17	JENGs-17	Yok	Dedesinde nöbet öyküsü	Yok
18	JENGs-18	Yok	Kardeşinde nöbet öyküsü	Yok
19	JENGs-19	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
20	JENGs-20	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
21	JENGs-21	EEG'de IJE anomalisi	Baba tarafında nöbet öyküsü	Yok
22	JENGs-22	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
23	JENGs-23	Yok	Yok	İkiz doğum, asfiksi öyküsü
24	JENGs-24	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
25	JENGs-25	EEG'de IJE anomalisi	Babasında nöbet öyküsü	Yok
26	JENGs-26	Yok	Yok	Yok
27	JENGs-27	EEG'de IJE anomalisi	Annesinde nöbet öyküsü	Prematüre doğum, afebril konvülsiyon, gelişme geriliği
28	JENGs-28	EEG'de IJE anomalisi	Kuzeninde nöbet öyküsü	Yok
29	JENGs-29	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
30	JENGs-30	EEG'de IJE anomalisi	Yok	Yok
31	JENGs-31	EEG'de IJE anomalisi	Kuzeninde nöbet öyküsü	Yok
32	JENGs-32	EEG'de IJE anomalisi, yüzde yapısal bozukluk	Yok	Yok

(EEG: Elektroensefalografi, IJE: İdiyopatik jeneralize epilepsi, MR: Manyetik rezonans görüntüleme)

Çizelge 4. 3. Hastalara ait epileptik nöbet tipi, IJE sendrom tipi ve son 1 yıldaki nöbet sıklığı bilgileri

No	Proje No	Epileptik nöbet tipi	Sendrom tipi	Son 1 yıldaki nöbet sıklığı
1	JENGs-1	TK, MK	JME	Ayda 1'den fazla
2	JENGs-2	TK, MK	JME	Ayda 1'den az
3	JENGs-3	TK, MK	JME	Ayda 1'den fazla
4	JENGs-4	TK, MK	JME	Ayda 1'den az
5	JENGs-5	TK, MK	JME	Yok
6	JENGs-6	TK, MK	JME	Yok
7	JENGs-7	TK	yok	Ayda 1'den az
8	JENGs-8	TK	Uyanırken gelen JK	Yok
9	JENGs-9	Tonik	yok	Yok
10	JENGs-10	Tonik	yok	Ayda 1'den az
11	JENGs-11	TK	JTKN	Yok
12	JENGs-12	TK	JTKN	Yok
13	JENGs-13	TK, MK	JME	Yok
14	JENGs-14	TK, MK	JME	Yok
15	JENGs-15	TK, MK	JME	Ayda 1'den az
16	JENGs-16	TK, MK	JME	Ayda 1'den az
17	JENGs-17	TK	Grandmal epilepsi	Yok
18	JENGs-18	TK	Grandmal epilepsi	Yok
19	JENGs-19	TK, MK	JME	Yok
20	JENGs-20	Absans	CCAe	Yok
21	JENGs-21	TK	JTKN	Yok
22	JENGs-22	TK	UGJK	Ayda 1'den fazla
23	JENGs-23	TK	UGJK	Yok
24	JENGs-24	Absans	CCAe	Ayda 1'den az
25	JENGs-25	TK	UGJK	Ayda 1'den az
26	JENGs-26	TK, MK	JME	Ayda 1'den az
27	JENGs-27	TK	JTKN	Yok
28	JENGs-28	TK, MK	JME	Yok
29	JENGs-29	Sekonder jeneralize miyoklonik	JME	Ayda 1'den fazla
30	JENGs-30	MK	JME	Ayda 1'den fazla
31	JENGs-31	TK	JTKN	Ayda 1'den az
32	JENGs-32	TK, MK	JME	Yok

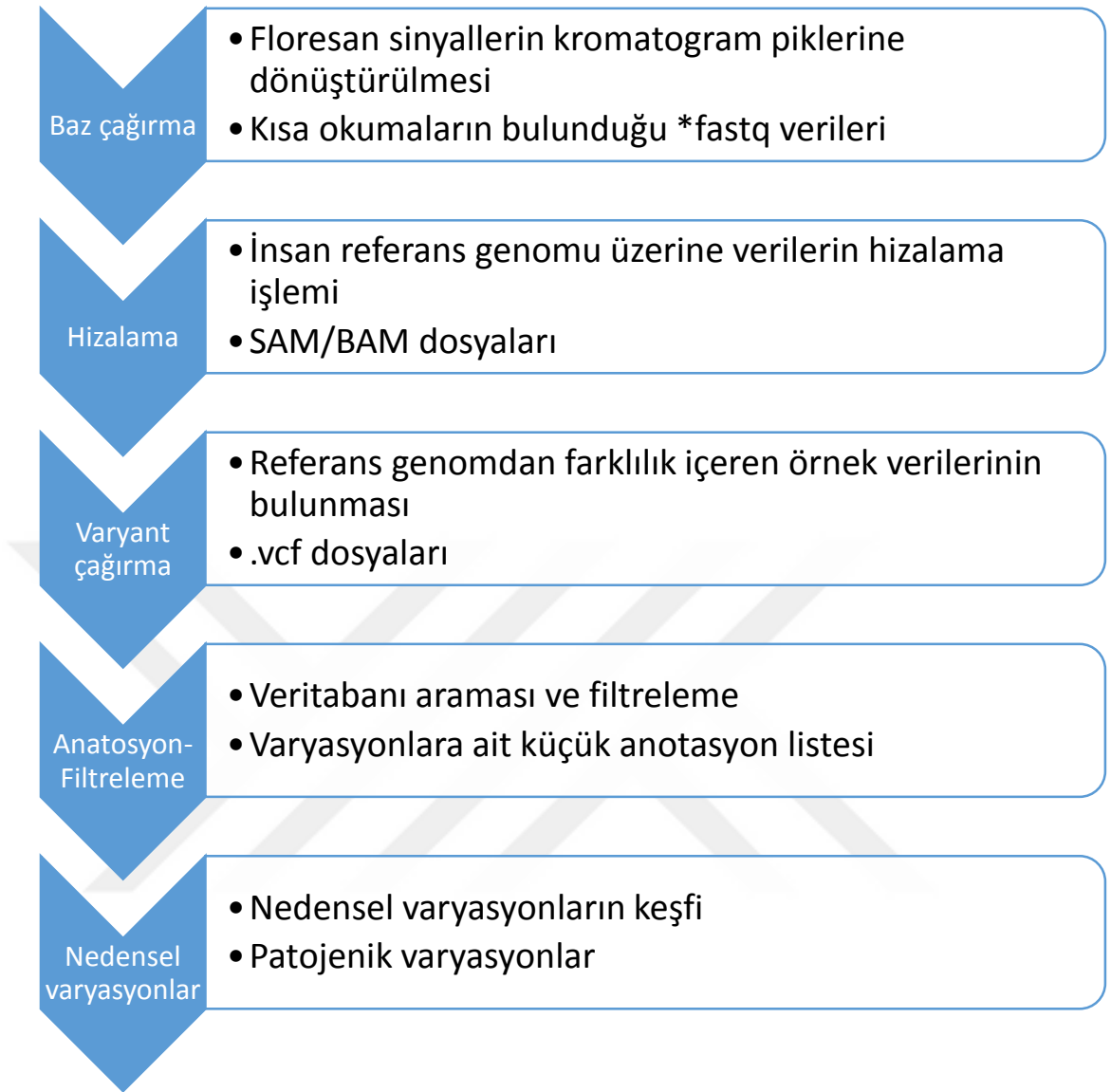
(TK: Tonik-klonik, MK: Miyoklonik, JME: Juvenil miyoklonik epilepsi, JTKN: Jeneralize tonik-klonik nöbetleri, UGJK: Uyanırken gelen JK nöbetleri, MR: Manyetik rezonans görüntüleme, ÇÇAE: Çocukluk çağı absans epilepsi)

4.2. NGS Bulguları

Çalışmada 32 hastaya ait gDNA örneklerinden hedeflenmiş yeni nesil dizileme yöntemi ile toplam 18 gene ait kodlama yapan ve ekzon/intron splay bölgelerine özgü sekanslama işlemi gerçekleştirildi. NGS işlemi sonucu elde edilen veriler doğrultusunda hedeflenen toplam 18 gen açısından 280 ekzon ve ekzon/intron splicing bölgeleri değerlendirildiğinde ≥ 96 oranında kaplam yüzdesine ulaşılmış olduğu görüldü. Hedef genlerin UMI indeks kaplamı $\geq 10x$ ve $\geq 30x$ 'te ortalama $\geq 99\%$ olarak gözlemlendi. Saptanan nükleotid değişimleri açısından NGS verileri değerlendirilirken okuma derinliği en az 20 olarak kabul edildi.

Çalışılan bütün örneklerle ait verilerin kalite ölçüt parametreleri açısından yeterli ve analize uygun olduğu belirlendikten sonra elde edilen verilerin biyoinformatik analiz akışı temel basamakları Şekil 4.1'de belirtilmiştir. Çalışmada elde edilen ham (raw) veriler QCI Analyze Universal 1.7.0 programı ile fastq formatından Sequence Alignment Map (SAM) / Binary Alignment Map (BAM) ve Variant Call Format (.vcf) formatına dönüştürüldü. Ardından Qiagen Clinical Insight (QCI) ve Qiagen ingenuity variant analysis (IVA) programı ile saptanan varyasyonların patojenite açısından analizleri gerçekleştirildi.

Varyasyonların çok yönlü değerlendirmesi için klinik veri bankaları, in siliko fonksiyonel analizleri, popülasyon veri tabanları gibi faydalanılan başlıca uygulamalar; insan genom mutasyon veritabanı (HGMD), Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), ClinVar, HGNC, dbSNP, Exome Sequencing Project (ESP), 1000 Genomes Project (1000G), Exome Aggregation Consortium (ExACg), MutationTaster, SIFT, PolyPhen-2 HDIV, PROVEAN, Human Splicing Finder, GeneSplicer, GERP, PhyloP'dır. Ayrıca 'VarSome The Human Genomics Community' ve 'Franklin by Genoox' açık erişimli varyasyon anotasyon arama motorlarından da yararlanıldı. Benign ve muhtemelen benign olarak saptanan varyasyonlar değerlendirmeye alınmadı. Bu kapsamda hastalarda klinik önemi bilinmeyen (VUS), muhtemelen patojenik ve patojenik olarak değerlendirilen varyasyonlar, saptandıkları hastaların çalışma protokolüne göre genotip ve segregasyon bilgileri Çizelge 4.4'te belirtilmiştir. Çizelge 4.5'te varyasyonlara ait dbSNP kayıtları, ACMG-2015 skorları, ClinVar verileri ve patojenitesi bilgileri verilmiştir.



Şekil 4. 1. NGS verileri biyoinformatik analizi iş akışı

Çizelge 4. 4. Çalışmaya dahil edilen hastaların genotip ve aile segregasyon analizi sonuçları

No	Sonuç	Genotip	Segregasyon analizi
JENGs-2	NM_006516.3(<i>SLC2A1</i>):c.814A>G, p.Ile272Val	Heterozigot	Ebeveynler hayatta değil
JENGs-7	NM_001165963.2(<i>SCN1A</i>): c.560G>A, p.R187Q	Heterozigot	Paternal kalıtım
JENGs-11	NM_004366.6(<i>CLCN2</i>):c.2481T>G, p.Ile827Met	Heterozigot	Paternal kalıtım
JENGs-12	NM_001199107.2(<i>TBC1D24</i>):c.*1C>T	Heterozigot	-
JENGs-15	NM_005458.8(<i>GABBR2</i>):c.2575G>A, p.Asp859Asn	Heterozigot	Maternal kalıtım
JENGs-16	NM_001178015.2(<i>SLC4A10</i>):c.2852G>A, p.Arg951Gln	Heterozigot	-
JENGs-26	NM_001037.5(<i>SCN1B</i>):c.632G>A, p.C211Y	Heterozigot	-
JENGs-29	NM_004366.6(<i>CLCN2</i>):c.1603A>G, p.Met535Val	Heterozigot	Maternal kalıtım
JENGs-30	NM_001199107.2(<i>TBC1D24</i>):c.641G>A, p.Arg214His	Heterozigot	-

Çizelge 4. 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların dbSNP kayıtları, ACMG skorları, ClinVar verileri ve patojenite bilgileri

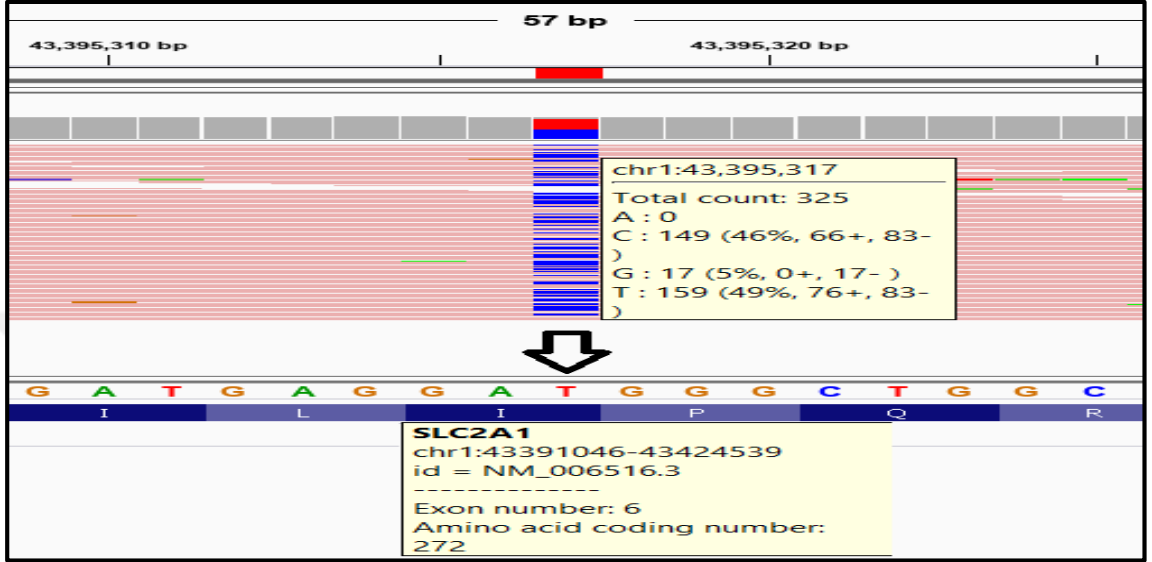
No	Gen	Sonuç	dbSNP	ClinVar	ACMG	Patojenitesi
JENGs-2	<i>SLC2A1</i>	NM_006516.3:c.814A>G	rs773478979	-	PM1, PM2, PP3	VUS
JENGs-7	<i>SCN1A</i>	NM_001165963.2:c.560G>A	rs777631884	VUS	PM1, PM2, PP2, PP3	Olası Patojenik
JENGs-11	<i>CLCN2</i>	NM_004366.6:c.2481T>G	-	-	PM1, PM2, PP2, PP3	VUS
JENGs-12	<i>TBC1D24</i>	NM_001199107.2:c.*1C>T	rs370047688	VUS	PM2, BP4	VUS
JENGs-15	<i>GABBR2</i>	NM_005458.8:c.2575G>A	rs79773606	Benign	PP2, PP3, BP6	VUS
JENGs-16	<i>SLC4A10</i>	NM_001178015.2:c.2852G>A	rs748518515	-	PM1, PM2, PP2	VUS
JENGs-26	<i>SCN1B</i>	NM_001037.5:c.632G>A	rs150721582	Çelişkili patojenite	PM2, PP3, BP6,	VUS
JENGs-29	<i>CLCN2</i>	NM_004366.6:c.1603A>G	rs1313875037	-	PM2, PP2, PP3	VUS
JENGs-30	<i>TBC1D24</i>	NM_001199107.2:c.641G>A	rs200324356	Çelişkili patojenite	PM1, PM2, PP2, PP3, BP6	VUS

Çizelge 4. 6. Çalışmaya dahil edilen hastalarda saptanan varyasyonların genotip ve in siliko tahminleme skorları

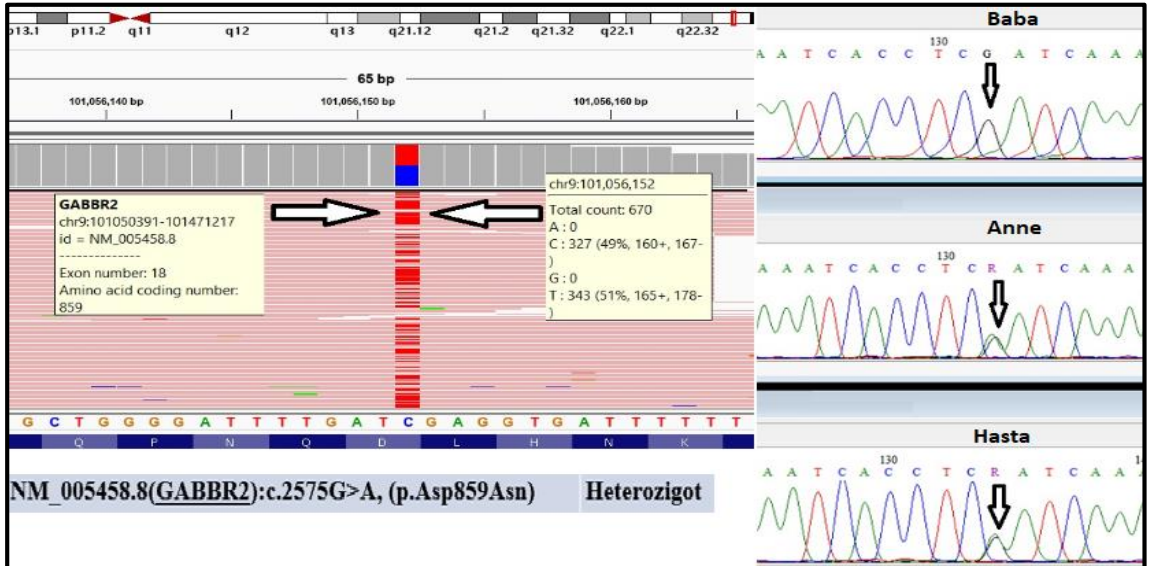
Hasta	Gen	Kalıtım	Transkript	HGVSc	HGVSp	SIFT	PolyPhen	CADD	DANN	GERP
JENGs-2	SLC2A1	OD	NM_006516.3	c.814A>G	p.(Ile227Val)	Tolere	Benign	Muhtemelen Zararlı(19.9)	0.995	5.13
JENGs-7	SCN1A	OD	NM_001165963.2	c.560G>A	p.(Arg187Gln)	Zararlı	Muhtemelen Zararlı	Zararlı (31)	0.999	5.23
JENGs-11	CLCN2	OD	NM_004366.6	c.2481T>G	p.(Ile827Met)	Zararlı	Muhtemelen Zararlı	Zararlı (22.9)	0.996	5.36
JENGs-12	TBC1D24	OR	NM_001199107.2	c.*1C>T	-	NP	NP	Muhtemelen Zararsız(<10)	0.7	4.15
JENGs-15	GABBR2	OD	NM_005458.8	c.2575G>A	p.(Asp859Asn)	Zararlı	Benign	Zararlı (23.7)	0.998	5.11
JENGs-16	SLC4A10	UN	NM_001178015.2	c.2852G>A	p.(Arg951Gln)	Tolere	Muhtemelen Zararlı	Zararlı (27.5)	0.999	5.42
JENGs-26	SCN1B	OD	NM_001037.5	c.632G>A	p.(Cys211Tyr)	Zararlı	Muhtemelen Zararlı	Zararlı (27.6)	0.997	4.94
JENGs-29	CLCN2	OD	NM_004366.6	c.1603A>G	p.(Met535Val)	Zararlı	Benign	Zararlı (23.2)	0.994	5.13
JENGs-30	TBC1D24	OR	NM_001199107.2	c.641G>A	p.(Arg214His)	Tolere	Muhtemelen Zararlı	Zararlı (25)	0.994	5.42

(OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif, HGVSc: İnsan Genom Varyasyon Topluluğu veri tabanında bir varyantın kodon pozisyonu, [3] HGVSp: İnsan Genom Varyasyon Topluluğu veri tabanında bir varyantın protein pozisyonu)

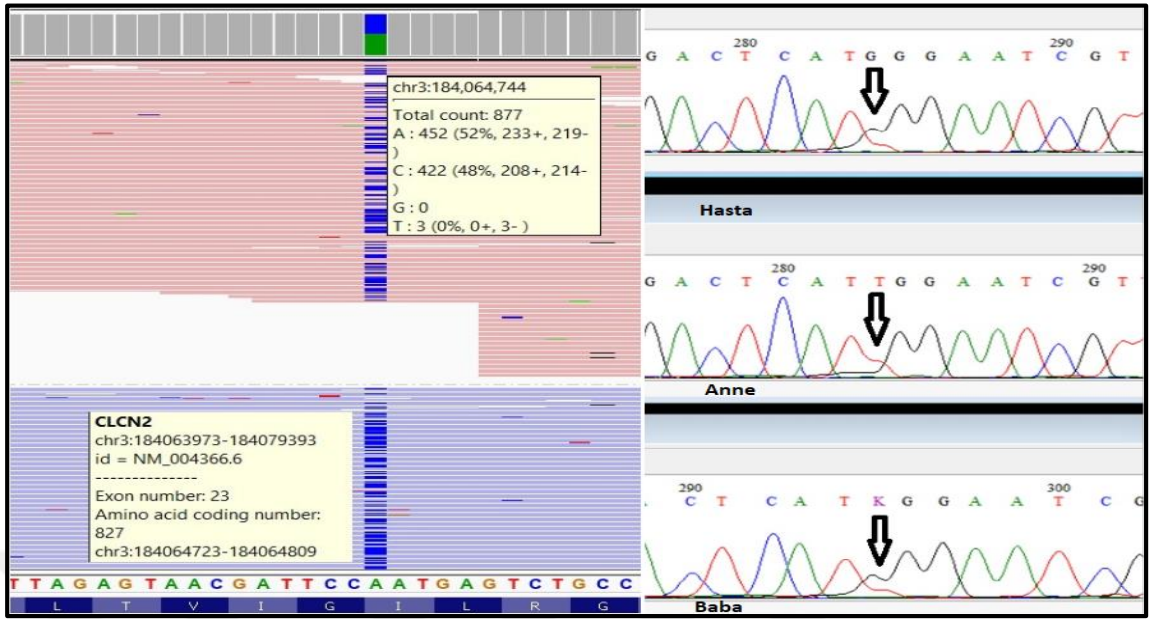
Çalışmamızda VUS ve muhtemelen patojenik olarak saptanan ve segregasyon analizleri yapılan varyasyonların ilgili hastalardaki IGV ve Sanger sekans görüntüleri Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de gösterildi.



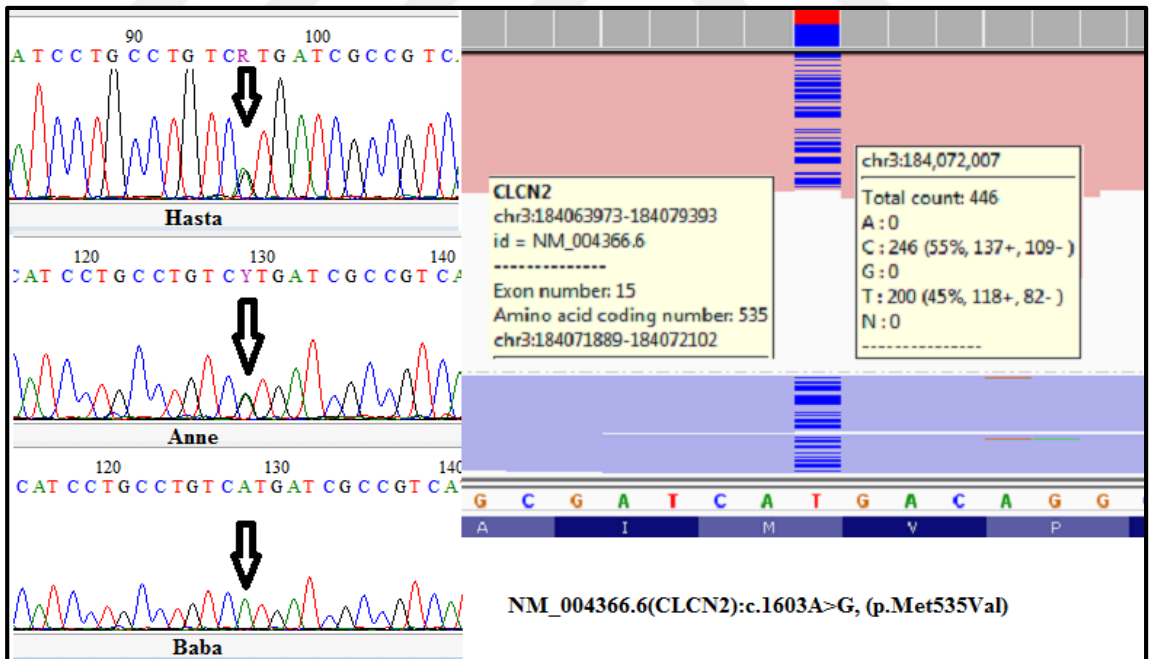
Şekil 4.2. JENGs-2 numaralı hastada *SLC2A1* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü



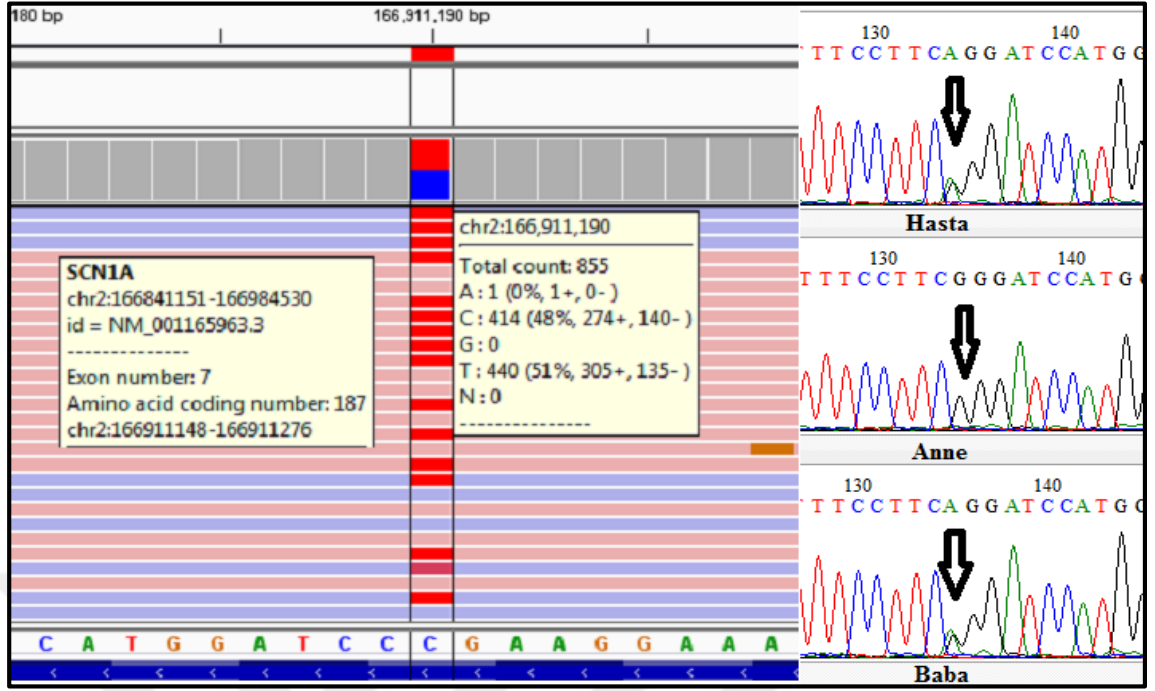
Şekil 4.3. JENGs-15 numaralı hastada *GABBR2* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu



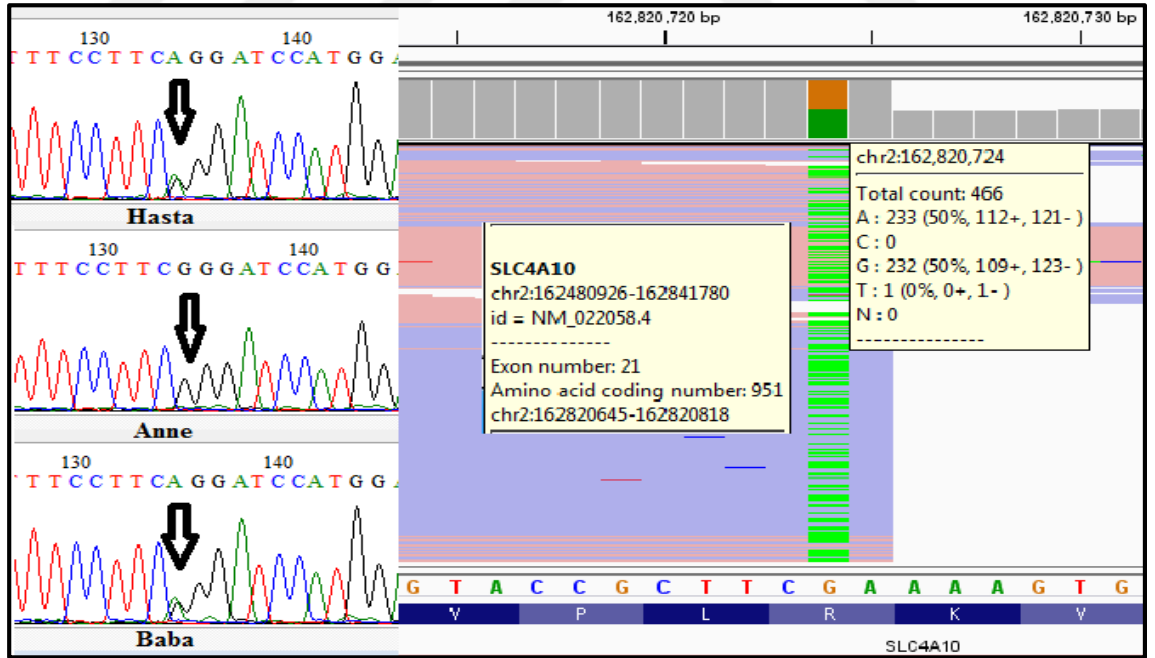
Şekil 4.4. JENGs-11 numaralı hastada *CLCN2* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu



Şekil 4.5. JENGs-29 numaralı hastada *CLCN2* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu



Şekil 4.6. JENGs-7 numaralı hastada *SCN1A* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu



Şekil 4.7. JENGs-16 numaralı hastada *SLC4A10* geninde saptanan varyasyona ait IGV görüntüsü ve aile sanger sekans segregasyon sonucu

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Epilepsi, epileptik nöbetler oluşturmak için kalıcı bir yatkınlıkla karakterize bir grup beyin hastalığıdır. Buna göre nöbetler, epilepsinin en sık gözlenen belirtilerindendir. Epileptik nöbetler, kalıcı yatkınlıkla ilişkili olmayan izole olaylar olarak da ortaya çıkabilir ve bu nedenle, bir nöbetin meydana gelmesi, mutlaka bir epilepsi teşhisi anlamına gelmeyebilir (Perucca vd., 2020).

Epilepsi en yaygın nörolojik hastalıklardan birisidir ve her yaş, cinsiyet ve etnik kökene sahip bireyleri etkileyebilir (Devinsky vd., 2018). Sanayileşmiş ülkelerde, insanların yaklaşık %10'u yaşamları boyunca bir nöbet geçirebilir ve %3-4'ü epilepsi geliştirme riskine sahiptir (Hesdorffer vd., 2011). Yaşam boyu epilepsi gelişme riski, düşük ve orta gelirli ülkelerde daha da yüksektir (Espinosa-Jovel, Toledano, Aledo-Serrano, García-Morales & Gil-Nagel, 2018). Epilepsinin sosyal, mesleki, fiziksel ve psikolojik işlev üzerinde olumsuz etkileri vardır (Perucca vd., 2020). Global Burden of Disease 2010 çalışmasında, epilepsi, engelliliğe göre, yaşam yılları açısından en fazla yük getiren ikinci nörolojik hastalık olarak sunulmuştur. (Murray vd., 2012).

ILAE, 2017 yılında epilepsilerin sınıflandırmasını revize etmiştir. Sınıflandırmada temel olarak 3 farklı kategori düzeni uygulanmıştır. Bunlar nöbet türlerinin tanımlanması, epilepsi tipinin tanımlanması ve spesifik bir sendromik tanı konulabilmesine bağlı olan epilepsi sendromunun tanımlanmasından oluşur. Bu gözden geçirilen revize sınıflandırmada, klinik yönetim üzerindeki etkileri nedeniyle üç seviyenin her birinde etiolojinin belirlenmesinin önemi vurgulanmaktadır; etiyojik kategoriler ise yapısal, genetik, bulaşıcı, metabolik, immün ve bilinmeyen olarak sınıflandırılmıştır (Scheffer vd., 2017).

IJE, tipik olarak yaşamın ilk yirmi yılında ortaya çıkan yaygın epilepsi tipleridir. IJE, ILAE'ye göre dört farklı klinik sendromu içerir: ÇÇAE; JAE (göz kapağı miyoklonisi/Jeavons sendromu ile birlikte absanslar dahil); JME ve JTKN ile seyreden IJE'ler.

2005 yılından bu yana, yüksek verimli genetik testlerin geliştirilmesi ve uygulanması, epilepsi ile ilişkili yüzlerce genin keşfedilmesini kolaylaştırmıştır. 2017 itibarıyla en az 66 farklı epilepsi ile ilişkili iyon kanalı geni bildirilmiştir. Bununla birlikte, iyon kanalı genleri aslında epilepsi ile bağlantılı genlerin toplamının bir kısmını oluşturur. Çeşitli hücresel süreçlerde yer alan genlerin artık epilepsiyle ilişkileri bilinmektedir. Bu süreçler genel olarak farklı yollara ayrılabilir: iyon taşınması; hücre büyümesi ve farklılaşması; sinaptik süreçlerin düzenlenmesi; küçük moleküllerin hücreler arasında ve içinde taşınması ve metabolizması; gen transkripsiyonunun ve translasyonunun düzenlenmesi. Epilepsi gen panelleri, klinik ekzom dizileme ve tüm ekzom dizileme dâhil olmak üzere yüksek verimli genetik test platformları (NGS) artık klinik alanda kullanılmakta ve epilepsi hastalarında da bu testlerin uygulaması her geçen gün artış göstermektedir (Symonds & McTague, 2019).

Çalışmamızda IJE ön tanısı ile kliniğimize yönlendirilen hastalarda genetik etiyolojinin aydınlatılması amacıyla, iyon kanalları alt ünitelerini kodlayan (*CHRNA2*, *CHRNA4*, *CHRNA2*, *CLCN2*, *GABRA1*, *GABR2*, *GABRD*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN9A*) ve IJE ile ilişkili/aday olabileceği belirlenen (*EFHC1*, *SLC2A1*, *SLC4A10*, *TBC1D24*) genlerin NGS yöntemi kullanılarak analizi gerçekleştirildi.

Toplam 18 gene ait kodlama yapan ve ekzon/intron splay bölgelerine özgü primer setlerinin dizaynı yapıldı. NGS işlemi sonucu elde edilen veriler doğrultusunda hedeflenen toplam 18 gen ait 280 ekzon ve ekzon/intron splay bölgeleri açısından kaplam büyüklüğü $\geq$ % 96 oranındaydı. Hedef genlerin UMI indeks kaplamında $\geq 10x$ ve $\geq 30x$ 'te ortalama $\geq$ %99 oranında başarı sağlandı. Saptanan nükleotid değişimleri açısından NGS verileri değerlendirilirken okuma derinliği en az 30 olarak kabul edildi.

Çalışmamıza dahil edilen 32 hastadan birisinde muhtemel patojenik (*SCN1A* geninde bir varyant) ve sekizinde klinik önemi bilinmeyen (2 tane *CLCN2* geninde,

GABBR2, *SCN1B*, *SLC2A1*, *SLC4A10* genlerinde ve 2 tane de *TBC1D24* geninde) olmak üzere dokuz (%28) varyasyon saptadık.

Sodyum kanalının alfa 1 alt birimini kodlayan *SCN1A* (OMIM # 182389) geninin, bazı epilepsi sendromları ve bir dizi başka hastalıkla ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Scheffer & Nabbout, 2019). Epilepside yer aldığı bilinen genler arasında *SCN1A* geni, süper suçlu gen olarak adlandırılan en yaygın mutasyona uğramış insan epilepsi genlerinden birini temsil eder. Çeşitli epilepsi fenotiplerinde bugüne kadar bildirilen 1700'den fazla varyant ile klinik olarak en iyi bilinen epilepsi ilişkili gendir (Parihar & Ganesh, 2013). *SCN1A* genindeki varyasyonlar, ateşli nöbetlerden, DS'na kadar çok çeşitli epilepsi fenotiplerinin ortak genetik nedenidir. Sodyum iyon kanalının gözenek oluşturma biriminin kodlanmasından sorumlu olan *SCN1A*'nın IJE ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Chan vd., 2019).

SCN1A ilişkili nöbet bozuklukları, otozomal dominant olarak kalıtılır. *SCN1A* nöbet bozukluğu olan bir probandin kalıtsal veya de novo patojenik bir varyantı olabilir. De novo patojenik varyantların neden olduğu vakaların oranı fenotipe göre değişir: *SCN1A* nöbet bozukluğuna sahip bir probandin ve etkilenen bir ebeveynin yüzdesi, probanddaki fenotipin şiddeti arttıkça azalır; bu nedenle, bebeklik döneminde *SCN1A* ile ilişkili şiddetli miyoklonik epilepsilerin çoğu (*SCN1A*-SMEI) ve tonik klonik nöbetle seyreden intraktabl çocukluk çağı epilepsisi (ICE-GTC), de novo patojenik bir varyantın sonucudur. *SCN1A* nöbet bozukluğu olan bir bireyin, her çocuğunun patojenik varyantı kalıtma riski % 50'dir; ancak, azalan penetrans nedeniyle nöbet geliştirme riski %100'den azdır (Ian O Miller vd., 2019). Dravet sendromlu ve doğrulanmış bir *SCN1A* patojenik varyantı olan çocukların ebeveynlerinin test sonuçlarına göre, çocukların %95'inde (76/80) patojenik varyantın probanda de novo olduğunu gösterilmiştir. Patojenik varyantı olan bir ebeveyne sahip dört çocukta ikisinde yanlış anlamalı varyant ve ikisinde trunkasyon (kesme) varyantı saptanmış; ebeveynlerin ise ya asemptomatik ya da hafif epilepsi öyküsü olduğu bildirilmiştir. Suls ve ark.'nın çalışma sonuçlarına göre; *SCN1A* haployetmezliğinin, orta derecede etkilenen epilepsi hastaları dâhil olmak üzere önemli bir aile içi klinik değişkenliğe neden olabileceği bildirilmiştir. Birden fazla genetik ve çevresel faktörün dâhil olması, fenotip şiddetindeki bu farklılığın temelini oluşturabilir (Suls vd., 2010).

JENGs7 numaralı hastamızda *SCN1A* geninde saptamış olduğumuz heterozigot, *SCN1A*:c.560G>A (p.Arg187Gln) varyasyonu, dbSNP veri tabanında rs777631884 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı 0.000004 (1/250522, GnomAD_exome) olarak bildirilmiştir. *SCN1A*:c.560G>A (p.Arg187Gln) varyasyonu ile ilişkili ClinVar veri tabanında toplam 4 adet kayıt bulunmaktadır. HGMD® veri tabanında ‘hastalık yapıcı?’ olarak bildirilmiştir. *SCN1A*:c.560G>A (p.Arg187Gln) varyasyonu ile ilişkili olarak yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM1, PM2, PP2, PP3”, DANN skoru: 0,9994, Gerp Skoru: 5,2399, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Zararlı olarak saptandı ve “Olası patojenik” olarak değerlendirildi. Literatürde *SCN1A*:c.560G>A (p.Arg187Gln) varyasyonu ile ilişkili yapılmış fonksiyonel bir çalışma bulunmamaktadır. Varyasyona ait segregasyon analizi sonucunda, ilgili varyasyonun babadan (paternal) kalıtılmış olduğu görüldü. ClinVar girdilerinde belirtilen bilgilere göre, yapılan in siliko analizler, varyantın protein yapısına / işlevine zarar verip vermediği yönünde tahminlerde tutarsızdır. Splays tahmin modelleri, bu sekans değişikliğinin, splaysı etkileyebilecek yeni bir kriptik splays alıcı bölgesi yaratabileceğini göstermekte; ancak, RNA/fonksiyonel çalışmaların yokluğunda, bu dizi değişikliğinin gerçek etkisinin bilinemeyeceği bildirilmiştir. p.Arg187Gln (p.R187Q) yakınındaki (p.D188V, p.W190R, p.N191Y, p.N191K) yanlış anlamlı varyantlar, *SCN1A* ile bağlantılı bir bozuklukla ilişkili olarak HGMD veri tabanında bildirilmiş olup, proteinin bu bölgesinin fonksiyonel önemini destekler niteliktedir. Bu dizi değişikliğinde, *SCN1A* proteininin (p.Arg187Gln) 187. kodonunda arginin ile glutamin yer değiştirir. Arginin kalıntısı yüksek oranda korunur ve arginin ile glutamin arasında küçük bir fizikokimyasal fark vardır. Bu varyant literatürde *SCN1A* ile ilişkili rahatsızlıkları olan kişilerde bildirilmemiştir. Yanlış anlamlı varyasyonların protein yapısı ve işlevi (SIFT, PolyPhen-2) üzerindeki etkisini tahmin etmek için geliştirilen algoritmaların tümü, bu varyantın büyük olasılıkla yıkıcı olabileceğini önermektedir. Ancak bu tahminler, yayınlanmış fonksiyonel çalışmalarla desteklenmemiştir. Bu sebeple p.R187Q varyantının klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. Dizi değişikliklerinin RNA eklenmesi üzerindeki etkisini tahmin etmek için geliştirilen algoritmalar, bu varyantın bir ekleme bölgesi oluşturabileceğini veya güçlendirebileceğini öne sürmektedir. Ancak bu tahmin, yayınlanmış transkripsiyon çalışmaları ile doğrulanmamıştır. Özet olarak, mevcut kanıtlar bu varyantın hastalıktaki rolünü

belirlemek için şu anda yetersizdir (ClinVar, 2020). Ailevi vakalardaki çarpık dağılımın olası bir nedeni açık olmasa da, erkek ve dişi arasındaki gametojenik süreçteki farklılıkların, de novo mutasyona uğrayan baba alelinin artmış insidansının nedeni olabileceği öne sürülmüştür. Örneğin, dişilerde tüm yumurta hücrelerinde mayotik giriş doğumdan önce tamamlanırken, erkeklerde spermatogenez süreklilik gösteren bir süreçtir; dahası, erkeklerdeki germ hücreleri büyük olasılıkla mutajenik tetikleyicilere maruz kalabilir ve bu nedenle daha sıklıkla babaya ait alel mutasyonu uğrayabilir ya da de novo olarak ortaya çıkabilir. Ailevi vakalar arasında, etkilenenlerin %78'i (50 vakanın 39'u) annelerinden mutant aleli alırken, de novo olaylarda daha sık mutasyona uğrayan alel, köken olarak baba gibi görünmektedir (Parihar & Ganesh, 2013). Bu bilgiler doğrultusunda *SCN1A*:c.560G>A (p.Arg187Gln) varyantının, hastamızdaki klinik bulguları üzerine etkisini öngörebilmek için ileri fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

CLCN2 geni, klorür kanallarını kodlayan ClC gen ailesine aittir. Negatif yüklü klor atomlarını (klorür iyonları) taşıyan bu kanallar, bir hücrenin elektrik sinyalleri üretme ve iletme kabiliyetinde önemli rol oynar. Bazı klorür kanalları, hücre zarları boyunca klorür iyonlarının akışını düzenlerken, diğerleri klorür iyonlarını hücreler içinde taşır. *CLCN2* geni, ClC-2 adı verilen bir klorür kanalı oluşturulmasını sağlar. Bu kanalların çoğu hücrenin dış zarına gömülüdür ve klorür iyonlarını hücrelerin içine ve dışına taşırlar. Kanalin işlevinin özellikle beyindeki sinir hücrelerinde önemli olduğu düşünülmektedir. ClC-2 kanalı, hücrelerde normal bir iyon dengesini muhafaza etmenin yanı sıra suyun alınması ve salınmasında rol oynayarak nöronların boyutunu (hacmini) düzenler (Gaitán-Peñas vd., 2017; Stölting, Fischer & Fahlke, 2014; Wang vd., 2017). Önceki çalışmalarda, ÇÇAE (Everett vd., 2007), JAE, JME ve fokal epilepsi hastalarında *CLCN2* mutasyonları bildirilmiştir (Haug vd., 2009; D'Agostino vd., 2004). Yapılan bir genom çalışmasında, kromozom 3q26 üzerindeki yaygın IJE alt tipleri için bir duyarlılık lokusu tanımlanmıştır. 2003 yılında Haug ve ark.'ları, JME, ÇÇAE ve juvenil absans epilepsisi ve uyanma sırasında jeneralize tonik klonik nöbetler (GTCS) gibi yaygın IJE alt sendromlarından sorumlu *CLCN2* mutasyonlarını rapor etmişlerdir. *CLCN2* mutasyonlarının, kanalların GABAerjik inhibisyon için gerekli olan transmembran klorür gradyanını düşürme kabiliyetinin kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Balarabe & Watila, 2016). Epilepside iyon kanalı varyantları için büyük ölçekli ekzom taraması, daha önce epilepside rolü olması beklenmeyen genlerdeki mutasyonların/hedeflerin tanımlanmasına yol açmıştır.

Klorür kanalı genleri *CLCN1* ve *CLCN2* genlerindeki tek nükleotid polimorfizmleri, epilepsili birçok hastada kontrollere kıyasla üç kat daha fazla bulunmuştur (Spillane, Kullmann & Hanna, 2016). ClC-2 kanalını kodlayan *CLCN2* genindeki heterozigot mutasyonlar, IJE tanısı almış olan hastalarda tanımlanmıştır. Yine de *CLCN2*'nin epilepsideki rolü tartışmalıdır. *CLCN2*'nin başka bir bağımsız örnekteki rolünü araştırmak için, IJE ailesinden akraba olmayan 52 hasta ve Doose sendromlu 23 hasta *CLCN2* genindeki mutasyonlar için taranmış ve bulgular sonucunda hücre içi klorür birikimi ve nöronal aşırı uyarılmaya katkıda bulunabilecek bir işlev kaybına sebebiyet vereceği öngörülmüştür. Bununla birlikte, mutasyonların etkilenen üyeler arasında eksik ayrışması ve etkilenmemiş ebeveynler tarafından aktarılması, *CLCN2* mutasyonlarının tek başına epilepsiyi indüklemek için yeterli olamayacağı düşüncesini ortaya koymuştur (Saint-Martin vd., 2009).

Hasta JENG11'de *CLCN2*:c.2481T>G, (p.Ile827Met) varyasyonunu saptadık. *CLCN2*:c.2481T>G (p.Ile827Met) varyasyonu, dbSNP veritabanında rs1328709837 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı 0.000008 (2/251434, GnomAD_exome) olarak bildirilmiştir. ClinVar ve HGMD ® professional 2020.1 veri tabanlarında rapor edilmemiştir. *CLCN2*:c.2481T>G (p.Ile827Met) varyantı ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde, ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM1, PM2, PP2, PP3”, DANN skoru: 0,9962, Gerp Skoru: 5,36, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Zararlı olarak saptanarak, “Olası patojenik” olarak değerlendirildi. Literatürde *CLCN2*:c.2481T>G (p.Ile827Met) varyantı ile ilişkili yapılmış fonksiyonel çalışma bulunmamaktadır. Hastamızın ailesinde yapılan segregasyon analizi sonucunda, ilgili varyasyonun paternal aktarıldığı saptandı. Ancak hastanın babasında nöbet öyküsünün olmaması, ilgili varyantın hastamızdaki fenotipe neden olabileceği ile ilgili hipotezimizi desteklememektedir.

Çalışmamızda JENG29 numaralı hastada *CLCN2*:c.1603A>G (p.Met535Val) varyantını saptadık. *CLCN2*:c.1603A>G (p.Met535Val) varyantı, dbSNP veri tabanında rs1313875037 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı bildirilmemiştir. ClinVar ve HGMD ® professional 2020.1 veri tabanlarında bu varyasyon rapor edilmemiştir. *CLCN2*:c.1603A>G (p.Met535Val) varyantı ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM2, PP2, PP3”, DANN skoru: 0,9943, Gerp Skoru: 5,1399, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT:

Zararlı olarak saptandı ve “Klinik önemi bilinmeyen” olarak değerlendirildi. Literatürde *CLCN2*:c.1603A>G (p.Met535Val) varyantı ile ilişkili çalışma rapor edilmemiştir. Hastamızın ailesinde yapılan segregasyon analizi sonucuna göre ilgili varyantın maternal kalıtılmış olduğu saptandı. Hastanın annesinde nöbet öyküsünün olmaması nedeniyle ilgili varyantın hastamızın kliniği ile ilişkili olamayacağı sonucuna varıldı.

Çalışmamızda saptadığımız her iki *CLCN2* varyantında da ailesel aktarım söz konusuydu. Olguların demografik özellikleri ve klinik bulgularına göre yaptığımız değerlendirme sonucunda, ilgili varyantların veri tabanları ve in silico tahminleme algoritmalarında belirtilen patojenite bilgileri ile uyumsuz olduğunu gördük. Bununla birlikte ileride yapılacak olan fonksiyonel çalışmalarla bu bulguların detaylı araştırılması *CLCN2* geni ve epilepsi arasındaki ilişkiye katkıda bulunacaktır.

TBC1D24 genindeki çeşitli mutasyonlar, epilepsi ve entellektüel yetersizlik (ID, intellectual disability) ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. *TBC1D24*, insan beyninde yüksek oranda ifade edilir. Duyarsız mutasyonların varlığı, işlev kaybının zararlı olduğunu gösterir, ancak *TBC1D24*'ün fizyolojik işlevi henüz aydınlatılmaya başlanmıştır (Lin vd., 2020). Yaşamın ilk yıllarında ortaya çıkan erken başlangıçlı miyoklonik epilepsi ve sıklıkla uzun kümelerde meydana gelen miyoklonik nöbetler ve ilaç direnci, en yaygın *TBC1D24* epilepsi fenotipleridir (Balestrini vd., 2016). Resesif *TBC1D24* gen mutasyonları, ailesel infantil miyoklonik epilepsiden muzdarip bir İtalyan aile ve fokal epilepsi ve zihinsel engel sendromu olan bir Arap kökenli ailede olmak üzere iki ailede tanımlanmıştır. İtalyan ailede, miyoklonik ve jeneralize tonik-klonik nöbetler, ışığa duyarlılık ve normal nörolojik ve zihinsel gelişim ile karakterize edilen ailesel infantil miyoklonik epilepsi (FIME; MIM 605021) hastalığı rapor edilmiştir. Falace ve ark.'ları çalışmalarında, otozomal resesif idiyopatik epilepside bir *TBC1D24* mutasyonu saptamışlar ve bu sayede ARF6'ya bağlı moleküler yolağın, beyinin aşırı uyarılabilirliği ve nöbetlere katılımını rapor etmişlerdir (Zara vd., 2000).

Hasta JENG12'de *TBC1D24* geninde heterozigot *TBC1D24*:c.*1C>T varyasyonu saptadık. *TBC1D24*:c.*1C>T varyasyonu, dbSNP veri tabanında rs370047688 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı 0.000459 (112/244220, GnomAD_exome) olarak bildirilmiştir. ClinVar veri tabanında bir nöbet öyküsü bulunan hasta girdisi mevcuttur ve HGMD ® professional 2020.1 veri tabanlarında bu varyant rapor

edilmemiştir. *TBC1D24*:c.*1C>T varyasyonu ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM2, BP4”, DANN skoru: 0,7067, Gerp Skoru: 4,1599, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Zararlı olarak saptanarak, klinik önemi bilinmeyen varyant olarak değerlendirildi. Literatürde c.*1C>T varyantı ile ilişkili çalışma bildirilmemiştir. *TBC1D24* geni otozomal resesif kalıtım özelliğine sahiptir. Hastamızda *TBC1D24*:c.*1C>T varyantı heterozigot olarak saptandığı için fenotipe etkisi beklenmemektedir.

G-aminobütirik asit reseptörü tip A (GABAA reseptörü), merkezi sinir sistemindeki ana inhibitör fonksiyonlara aracılık eden ligand kapılı bir klorür kanalıdır. Aminobütirik asit tip B reseptör 2 (*GABBR2*), bir GABA-bağlanma alt birimi olan aminobütirik asit tip B reseptör 1 (*GABBR1*) ile birlikte zorunlu bir heterodimerik G-protein bağlı reseptör (GPCR) olan GABAB reseptör (*GABABR*) kompleksini oluşturur. *GABBR1* ve *GABBR2*, sinyal iletimi için gerekli olan hücre içi C-terminal alanları aracılığıyla bağlanır (Yoo vd., 2017). *GABBR1* ve *GABBR2* oluşan anormal bir aminobütirik asit B reseptörü nöbetleri tetikleyebilir. Daha yakın zamanlarda, genetik çalışmalar GABA'nın epilepsideki rolünü destekleyen ek kanıtlar sağlamıştır. İlk olarak, GABAA reseptörlerinin (*GABRB3*, *GABRG2*) iki alt birimi ve ayrıca iki GABAB reseptörü (*GABBR1*, *GABBR2*) açısından null farelerde epileptik nöbetlerle ilişkilendirilmiştir. Cossette ve ark.'nın çalışmasında IJE ailesel formları incelenmiştir. Bu çalışmada, insanlarda çeşitli epilepsi fenotipleri ile ilişkili GABAA reseptörlerindeki çeşitli mutasyonları ve bunların hücre ve hayvan modellerinde fonksiyonel sonuçları gözden geçirilmiş ve GABAA reseptör fonksiyonundaki bozulmanın insanlarda epilepsi ile ilişkili olduğuna dair ilk doğrudan kanıtlar sağlanmıştır (Cossette, Lachance-Touchette & Rouleau, 2012).

Hasta JENG15'te *GABBR2* geninde heterozigot *GABBR2*:c.2575G>A (p.Asp859Asn) varyantını saptadık. *GABBR2*:c.2575G>A (p.Asp859Asn) varyantı dbSNP veri tabanında rs79773606 numarası ile tanımlanmıştır. Global alel frekansı 0.00029 (9/31396, GnomAD) olarak bildirilmiş olup, ClinVar veri tabanında 2020 Şubat ayında epileptik ensefalopati hastasında benign olarak bir adet raporlama mevcuttur. Yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM2, PP2, PP3, BP6”, DANN skoru: 0,9989, Gerp Skoru: 5.11, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Zararlı olarak saptanarak, varyasyon VUS olarak değerlendirildi. *GABBR2*:c.2575G>A (p.Asp859Asn) varyasyonu HGMD ® professional 2020.1 veri

tabanında tanımlanmamıştır. İlgili varyasyonun parental aktarım durumunu belirlemek amacıyla aile segregasyon analizi yapıldı. *GABBR2* geninde saptamış olduğumuz varyasyonun anneden (maternal) aktarıldığı saptandı. Yapılan in-siliko değerlendirme sonuçları ve *GABBR2*:c.2575G>A (p.Asp859Asn) varyasyonunun maternal kalıtımı dikkate alındığında, JENG15'in IJE klinik bulgularını açıklayabilecek bir sonuca varılamadı.

SCN1B, aksiyon potansiyeli süreci sırasında NaV kanallarının birçok ana konformasyonel değişikliğini etkileyebilen NaVb1'i kodlamaktadır (Gong vd., 2019). Sodyum kanalları bir a ve iki b alt biriminden oluşur. *SCN2B*, b2 alt birimini kodlar ve *SCN2B*-null nöronların hücre yüzeyinde voltaj kapılı sodyum kanalı ekspresyonunu azalttığını gösteren çalışmalar, nöronlarda *SCN2B*'nin modülasyon işlevini açıklamıştır (Wei vd., 2017). *SCN1B* mutasyonları başlangıçta epilepsi ve febril nöbetler görülen ailelerde tanımlanmıştır. *SCN1B* fenotipi, *SCN1A* ile benzer klinik özellikler gösterir ve bu *SCN1B* mutasyonlarının patojenitesinin altında yatan mekanizmanın potansiyel olarak NaV1.1'in bozulmuş fonksiyonunu içerdiğini düşündürür. *SCN1B* varyantlarından bazıları (p.C121W, p.I70 E74del, p.R85C, p. R85H ve p.R125L) ateşli nöbet ve absans nöbet öyküsü olan IJE hastalarında bildirilmiştir (Gong vd., 2019).

JENG26 numaralı hastamızda *SCN1B* geninde saptanan heterozigot, *SCN1B*:c.632G>A (p.Cys211Tyr) varyantı, dbSNP veri tabanında rs150721582 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı 0.000414 (104/251424, GnomAD_exome) olarak bildirilmiştir. HGMD® Professional 2020.1 veri tabanında ise rapor edilmemiştir. ClinVar veri tabanında toplam 7 adet kayıt olmakla birlikte, bunlardan 2 tanesi “Klinik önemi bilinmeyen” ve 5 tanesi ise “Olası benign” olarak bildirilmiştir. ClinVar değerlendirmesine göre ilgili varyant “patojenitesi hakkında çelişkili değerlendirme” olarak rapor edilmiştir. *SCN1B*:c.632G>A (p.Cys211Tyr) varyantı ile ilgili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM2, PP3, BP6”, DANN skoru: 0,9974, Gerp Skoru: 3.91, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Zararlı olarak saptanarak, “VUS” olarak değerlendirildi. *SCN1B* geni IJE hastalığı dışında, ailesel atriyal fibrilasyon, Brugada 5 sendromu, spesifik olmayan kardiyak iletim defekti ve epileptik ensefalopati ile de ilişkilendirilmiştir. Hastamızda saptadığımız *SCN1B*:c.632G>A (p.Cys211Tyr) varyantı ClinVar veri tabanında Brugada 5 sendromlu bir olguda ve kardiyak fenotipli bir bireyde daha bildirilmiştir. Hastamızda kardiyak

bulgular ve eşlik eden başka bir hastalık öyküsü bulunmamaktadır. Hastamızın mevcut tüm bulguları birlikte değerlendirildiğinde ilgili varyantın fenotip üzerine bir etkisi olmadığı düşünülmektedir.

SLC2A1 geni 1p34.2 kromozom bölgesinde haritalanmıştır ve beyinde, plasenta ve eritrositlerde büyük bir glikoz taşıyıcısını kodlamaktadır. Serebral metabolizma esas olarak glikoza bağlıdır ve bunun için kan-beyin bariyeri boyunca GLUT1 tarafından kolaylaştırılmış bir difüzyon çok önemlidir. GLUT1 eksikliği sendromu (GLUT1-DS), beyindeki birincil glikoz taşıyıcı protein olan GLUT1'i kodlayan *SLC2A1* genindeki çeşitli mutasyonların neden olduğu hipoglikorasiinin ana biyokimyasal karakteristiğine sahip metabolik bir beyin hastalığıdır. *SLC2A1* gen mutasyonları, infantil nöbetler, gelişimsel gecikme, mikrosefali, hipotoni, spastisite ve karmaşık bir hareket bozukluğunu içeren 'klasik' GLUT1-DS' nin karmaşık fenotipinden IJE'ye kadar çeşitli epilepsi fenotiplerinde saptanmıştır. *SLC2A1* genindeki çeşitli genetik hataların vurguladığı büyük klinik heterojenite, GLUT1-DS'nin klinik ve genetik teşhisini karmaşık hale getirmiştir. Bu tür *SLC2A1* mutasyonları, proteinin erken bozulmasına yol açar ve GLUT1 konsantrasyonunu, hemizigot mutasyonların patolojik etkisine benzer şekilde %50'ye düşürür (Ivanova vd., 2018). Uzun ve ark.'nın çalışmasında GLUT1 eksikliğinin IJE nedeni olarak bildirildiği dikkate alınarak, *SLC2A1* gen varyantlarının olası varlığı açısından göz kapağı miyoklonisi ile ilişkili IJE hastalarını incelemişlerdir. *SLC2A1*, ilaca dirençli hastalarda, temel olarak tedavi seçeneği olan ketojenik diyet ile ilişkisi nedeniyle ILAE kılavuzlarına göre en önemli epilepsi genlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Ancak Uzun ve ark.'ları çalışma sonuçlarına göre, *SLC2A1* gen varyantlarının göz kapağı miyoklonisi ile ilişkili IJE' de önemli bir rol oynamadığını bildirmiştir. (Altıokka-Uzun vd., 2018).

Hasta JENG2'de *SLC2A1* geninde saptanan heterozigot, *SLC2A1*:c.814A>G (p. Ile272Val) varyantı, dbSNP veri tabanında tanımlanmamış olup, GnomAD_exome'da, ClinVar ve HGMD ® Professional 2020.1 veri tabanlarında ise rapor edilmemiştir. *SLC2A1*:c.814A>G (p. Ile272Val) varyantı ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: “PM1, PM2, PP2”, DANN skoru: 0.9956, Gerp Skoru: 5.13, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Tolere edilebilir olarak saptanarak, “Klinik önemi bilinmeyen” olarak değerlendirildi. 57 yaşında erkek hasta JENG2'nin nörolojik muayenesinde, ilk atak başlangıç yaşı 8, EEG bulguları

normal, ailede akrabalık öyküsü ve nöbet öyküsü bulunmamaktaydı. Segregasyon analizi hastanın anne ve babasının hayatta olmaması sebebiyle yapılamadı. *SLC2A1* geni ile ilişkili IJE hastalığında kalıtım özelliğinin otozomal dominant (baskın) olması nedeniyle hastamızda saptamış olduğumuz varyanta ait güncel fonksiyonel araştırma ve uygulamaların gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

İnsanlarda, *SLC4A10* genini kapsayan 2q24 lokusundaki genetik anomaliler, karmaşık epileptik durumlar, EY, OSB, bilişsel engellilik ve işitme bozukluğu ile ilişkilidir. Farelerde yapılan çalışmalarda, *SLC4A10* gen varyantları, nöronal uyarılabilirliği azaltarak nöbet eşiğinin artması, görme keskinliğinin ve kontrast duyarlılığının bozulması ve işitme kaybına neden olduğu bildirilmiştir. *SLC4A10*, epilepsiyle yaygın olarak ilişkilendirilen 2 bölge olan serebral korteks ve hipokampusta yüksek oranda eksprese edilir. *SLC4A10*, hipokampustaki sinaptik kısa süreli plastisiteyi modüle eder. Wang ve ark.'nın insanlarda yapmış olduğu genetik çalışmada, *SLC4A10*'un plazma ozmolalitesinin düzensizliği ve sistemik su dengesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu fenotipin insandaki patolojik gelişiminin *SLC4A10*'u içeren bir bağırsak bileşenini içermesinin mümkün olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2019). Christina ve ark.'nın çalışmasından elde edilen bulgulara göre, normal *SLC4A10* ekspresyonunun insan bilişsel işlevi ve nöronal uyarılabilirlik için kritik olduğu belirtilmiştir. *SLC4A10* dahil olmak üzere SLC4A ailesinin bikarbonat taşıyıcılarının nöbet bozukluklarında rol oynadığına dair kanıtlar ışığında, nöronal uyarılabilirlik ve epilepsinin patofizyolojisi hakkında daha kapsamlı bir görüş elde etmek için sinaptik aktarımda rollerinin daha iyi anlaşılması gerekliliği de vurgulanmıştır. Ayrıca Christina ve ark. çalışmalarında, elektronötr sodyum bikarbonat değiştiriciyi kodlayan bir gen olan *SLC4A10* geninde meydana gelen değişikliklerle birlikte epilepsi ve bilişsel bozukluğu olan ilk hastayı rapor etmişlerdir (Gurnett vd., 2008).

Hasta JENG16'da *SLC4A10* geninde saptanan heterozigot, *SLC4A10*:c.2852G>A (p.Arg951Gln) varyantı, dbSNP veri tabanında rs748518515 numarası ile tanımlanmış olup, global alel frekansı A=0.000012 (3/248636, GnomAD_exome) olarak bildirilmiştir. *SLC4A10*:c.2852G>A (p.Arg951Gln) varyantı ile ilişkili yapmış olduğumuz in-siliko analizde ACMG-2015 kriterlerine göre patojenite skorları: "PM1, PM2, PP2", DANN skoru: 0.9956, Gerp Skoru: 5.13, MutationTaster: Hastalık Yapıcı, SIFT: Tolere edilebilir olarak saptanarak, "VUS" varyant olarak değerlendirildi. 30 yaşında kadın hasta

JENG16'nın nörolojik muayenesinde, ilk atak başlangıç yaşı 15'di ve EEG bulgularına IJE anomalileri eşlik etmekteydi. Ailede akrabalık öyküsü yoktu ve nöbet öyküsü olan akrabası da bulunmamaktaydı. Segregasyon analizi hastanın anne ve babasına ulaşılamaması nedeniyle yapılamadı. *SLC4A10* geni ile ilişkili IJE hastalığında kalıtım paterninin otozomal resessif olduğunu destekleyen çalışmalar dikkate alındığında, hastamızda saptamış olduğumuz varyantın hastanın fenotipi üzerine etkisi beklenmemektedir.

Çalışmamızda IJE tanısı alan hastalarda saptamış olduğumuz 9 varyantı, hastaların klinik bulguları ile birlikte değerlendirdiğimizde, anlamlı bir fenotip-genotip ilişkisi kurulamadı. Varyantların de novo veya ailesel aktarım paternlerini belirlemek amacıyla her bir varyasyon için Sanger dizilemeye uygun primer çiftleri tasarlandı.

JENG2 numaralı hastamızda saptanan *SLC2A1* varyantının segregasyon analizi, olgunun anne ve babasının hayatta olmamaları nedeniyle yapılamadı. Kalıtım şekli otozomal dominant olan bu gen açısından patojenitesi hakkında yaptığımız değerlendirmenin ileri fonksiyonel çalışmalarla desteklenerek güçlendirilebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca hasta ile iletişime geçilerek eğer varsa hayatta olan kardeş ve yakın akrabalarında da bu varyantın çalışılmasını planlamaktayız.

İdiyopatik epilepsilerde kalıtım şekilleri genellikle komplekstir. Bu kalıtım şeklinde ilgili genler ile çevresel faktörlerin bir arada hastalık üzerine etkisi görülmektedir. Ayrıca IJE sendromlarının genelinde genetik heterojenite dikkati çekmektedir. Ayrıca birden fazla genin bu sendromlarla ilişkili olması veya tek bir genin birden çok epileptik sendromla bağlantılı olması da hastalığın altında yatan genetik etiyolojinin belirlenmesinde zorluklar oluşturabilmektedir.

Günümüzde NGS yöntemlerinin maliyetinin azalması, uygulamayı yapan merkezlerin sayısının artması ve ulaşılabilirliği gibi genetik alanında büyük gelişmeler yaşanmaktadır. Epilepsi hastalığı için farklı birçok NGS panelleri mevcut olmakla birlikte çalışmamızda izlediğimiz özgün tasarlanmış çoklu gen panelleri de etiyolojinin aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

BÖLÜM 6

SONUÇ

Çalışmamızda, IJE tanısı alan hastalarda genetik varyasyonların hastalık yapıcı etkilerinin araştırılması amacıyla, NGS yöntemi ile çalışılmak üzere toplam 18 geni içeren hedefli gen paneli oluşturuldu. Elde edilecek veriler doğrultusunda IJE hastalarının genetik etiyojisine, tanıya katkısına ve tedavi planlamasına katkı sağlanması amaçlandı.

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Nöroloji Ana Bilim Dalı polikliniğinde IJE tanısı alarak, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na yönlendirilen, toplam 32 IJE hastası çalışmaya dahil edildi.

Bir hasta Marfan sendromu şüphesi nedeniyle NGS aşamasına dahil edilmedi. Toplam 31 hastanın 1'inde muhtemelen patojenik (*SCN1A* geninde bir varyant) ve 8'inde VUS (2 tane *CLCN2* geninde varyasyon, birer tane *GABBR2*, *SCN1B*, *SLC2A1*, *SLC4A10*, 2 tane *TBC1D24* varyasyonu) olmak üzere 9 (%28) varyant saptandı.

Çalışmamızda özgün primerlerle tasarımını gerçekleştirdiğimiz 18 gen içeren hedefli NGS panelimizin etkinliği yeni aday genlerle arttırılabilir. Çalışmamız sonucunda elde edilen bulguların fonksiyonel ileri çalışmalarla desteklenerek ilgili varyasyonlardaki mevcut bilgilerin artırılması gerekmektedir. Çalışmamızın kısıtlayıcı unsurlarından bir tanesi olan örneklem sayısının artırılması ile IJE hastalarında fenotip-genotip ilişkisinin araştırılmasının literatüre önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akyüz, A., Bekar, D., Sümer, H., Topalkara, K., Topaktaş, S., & Dener, Ş. (1999). Sivas il merkezinde tabakalı örneklem yöntemi ile gerçekleştirilen epilepsi prevalans çalışması. *Epilepsi*, 5(1), 24-29.
- Altıokka-Uzun, G., Özdemir, Ö., Uğur-İşeri, S., Bebek, N., Gürses, C., Özbek, U., & Baykan, B. (2018). Investigation of SLC2A1 gene variants in genetic generalized epilepsy patients with eyelid myoclonia. *Epileptic Disorders*, 20(5), 396-400. doi:10.1684/epd.2018.0998.
- Aridon, P., Marini, C., Di Resta, C., Brilli, E., De Fusco, M., Politi, F., Parrini, E., Manfredi, I., Pisano, T., Pruna, D., Curia, G., Cianchetti, C., Pasqualetti, M., Becchetti, A., Guerrini, R., & Casari, G. (2006). Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor alpha-2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *American Journal of Human Genetics*, 79(2), 342-350.
- Balarabe, S. A., & Watila, M. M. (2016). Role of genetics in the etiopathogenesis of genetic generalized epilepsy: A review of current literature. *Sahel Medical Journal*, 19(2), 53-58. doi:10.4103/11188561.186038.
- Balestrini, S., Milh, M., Castiglioni, C., Lüthy, K., Finelli, M.J., Verstreken, P., Cardon, A., Stražišar, B.G., Holder, J.L. Jr, Lesca, G., Mancardi, M.M., Poulat, A.L., Repetto, G.M., Banka, S., Bilo, L., Birkeland, L.E., Bosch, F., Brockmann, K., Cross, J.H., Doummar, D., Félix, T.M., Giuliano, F., Hori, M., Hüning, I., Kayserili, H., Kini, U., Lees, M.M., Meenakshi, G., Mewasingh, L., Pagnamenta, A.T., Peluso, S., Mey, A., Rice, G.M., Rosenfeld, J.A., Taylor, J.C., Troester, M.M., Stanley, C.M., Ville, D., Walkiewicz, M., Falace, A., Fassio, A., Lemke, J.R., Biskup, S., Tardif, J., Ajeawung, N.F., Tolun, A., Corbett, M., Gecz, J., Afawi, Z., Howell, K.B., Oliver, K.L., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., de Falco, F.A., Oliver, P.L., Striano, P., Zara, F., Campeau, P.M., & Sisodiya, S.M. (2016). TBC1D24 genotype-phenotype correlation: Epilepsies and other neurologic features. *Neurology*, 87(1), 77-85. doi:10.1212/WNL.0000000000002807.
- Bambal, G., Çakıl, D., & Ekici, F. (2011). Models of experimental epilepsy. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2(1), 118-123.
- Bamikole, O. J., Olufeagba, M. B., Soge, S. T., Bukoye N. O., Olajide T. H., Ademola S. A., & Amodu, O. K. (2019). Genetics of Epilepsy. *Journal of Neurology & Neurophysiology*, 10(3).
- Baroni, M. G., Oelbaum, R. S., Pozzilli, P., Stocks, J., Li, S.R., Fiore, V., & Galton, D.J. (1992). Polymorphisms at the GLUT1 (HepG2) and GLUT4 (muscle/adipocyte) glucose transporter genes and non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Human Genetics*, 88(5), 557-561. doi:10.1007/BF00219344.

Bartolini, E., Campostrini, R., Kiferle, L., Pradella, S., Rosati, E., Chinthapalli, K., & Palumbo, P. (2020). Epilepsy and brain channelopathies from infancy to adulthood. *Neurological Sciences*, 41(4), 749-761. doi: 10.1007/s10072-019-04190-x.

Beghi, E., & Hesdorffer, D., (2014). Prevalence of epilepsy--an unknown quantity. *Epilepsia*, 55(7), 963-967. doi:10.1111/epi.12579.

Bilgin, Y., (1980). Toplumda Epilepsi Sorunu. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 33, 445-458.

Butler, K. M., Moody, O. A., Schuler, E., Coryell, J., Alexander, J. J., Jenkins, A., & Escayg, A. (2018). De novo variants in GABRA2 and GABRA5 alter receptor function and contribute to early-onset epilepsy. *Brain*, 141(8), 2392-2405. doi:10.1093/brain/awy171.

Çalışır N., Bora I., Irgil E., & Boz M., (2006). Prevalence of Epilepsy in Bursa City Center, an Urban Area of Turkey. *Epilepsia*, 47(10), 1691–1699. doi:10.1111/j.1528-1167.2006.00635.x.

Campeau, P. M., Kasperaviciute, D., Lu, J. T., Burrage, L. C., Kim, C., Hori, M., Powell, B. R., Stewart, F., Felix, T. M., van den Ende, J., Wisniewska, M., Kayserili, H., (2014). The genetic basis of DOORS syndrome: an exome-sequencing study. *Lancet Neurology*, 13, 44-58.

Çan, G., Bölükbaşı, O., Torun, P. (1996). *The Epilepsy Prevalence and Risk Factors in 0-6 Age Group in Trabzon City Center*. 5. Ulusal Halk Sağlığı kongresinde sunulan bildiri. İstanbul.

Carlson, A. B. & Kraus, G. P. (2020). Physiology, Cholinergic Receptors. *StatPearls*

Chan C. K., Low J. S., Lim K. S., Low S. K., Tan C. T., & Ng C. C. (2019). Whole exome sequencing identifies a novel SCN1A mutation in genetic (idiopathic) generalized epilepsy and juvenile myoclonic epilepsy subtypes. *Neurological Sciences*, 41(3), 591-598. doi:10.1007/s10072-019-04122-9.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1989). Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 30(4), 388-399.

Conti, V., Aracri, P., Chiti, L., Brusco, S., Mari, F., Marini, C., Albanese, M., Marchi, A., Liguori, C., Placidi, F., Romigi, A., Becchetti, A., & Guerrini, R. (2015). Nocturnal frontal lobe epilepsy with paroxysmal arousals due to CHRNA2 loss of function. *Neurology* 84, 1520-1528.

Cossette, P., Lachance-Touchette, P., & Rouleau. G. A. (2012). Mutated GABAA receptor subunits in idiopathic generalized epilepsy. Noebels J. L., Avoli M., Rogawski, M. A., et al (Ed.), *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsie*, 4th edition (s.1067-1091). National Center for Biotechnology Information (US).

Cuzon Carlson, V. C., & Yeh, H. H. (2011). GABAA receptor subunit profiles of tangentially migrating neurons derived from the medial ganglionic eminence. *Cerebral Cortex*, 21(8), 1792-802. doi:10.1093/cercor/bhq247.

D'Agostino, D., Bertelli, M., Gallo, S., Cecchin, S., Albiero, E., Garofalo, P. G., Gambardella, A., St Hilaire, J. M., Kwiecinski, H., Andermann, E., & Pandolfo, M. (2004)

Mutations and polymorphisms of the CLCN2 gene in idiopathic epilepsy. *Neurology*, 63(8), 1500-2. doi:10.1212/01.wnl.0000142093.94998.1a.

De Nijs, L., Wolkoff, N., Coumans, B., Delgado-Escueta, A.V., Grisar, T., & Lakaye, B. (2012). Mutations of EFHC1, linked to juvenile myoclonic epilepsy, disrupt radial and tangential migrations during brain development. *Human Molecular Genetics*, 21(23), 5106-17. doi:10.1093/hmg/dds356.

Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., de Curtis, M., & Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 18024. doi:10.1038/nrdp.2018.24.

Dibbens, L. M., Feng, H. J., Richards, M. C., Harkin, L. A., Hodgson, B. L., Scott, D., Jenkins, M., Petrou, S., Sutherland, G. R., Scheffer, I. E., Berkovic, S. F., Macdonald, R. L., & Mulley, J. C. (2004). GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies. *Human Molecular Genetics*, 13(13), 1315-9. doi:10.1093/hmg/ddh146.

Durón, R. M., Medina, M. T., Martínez-Juárez, I. E., Bailey, J. N., Perez-Gosiengfiao, K. T., Ramos-Ramírez, R., López-Ruiz, M., Alonso, M. E., Ortega, R. H., Pascual-Castroviejo, I., Machado-Salas, J., Mija, L., & Delgado-Escueta, A. V. (2005). Seizures of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia*, (46)9, 34-47. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.00312.x.

Elizabeth Dechene, E. (2016). *What's new with KCNT1 – a 2016 update*. 1 Aralık 2020 tarihinde <http://epilepsygenetics.net/2016/03/16/whats-new-with-kcnt1-a-2016-update> adresinden erişildi.

Ellis, C. A., Petrovski, S., & Berkovic, S. F. (2019). Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *The Lancet Neurology*, 19(1), 93-100. doi:10.1016/S1474-4422(19)30269-8.

Espinosa-Jovel, C., Toledano, R., Aledo-Serrano, Á., García-Morales, I., & Gil-Nagel, A. (2018). Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. *Seizure*, 56, 67-72. doi: 10.1016/j.seizure.2018.02.002.

Everett, K., Chioza, B., Aicardi, J., Aschauer, H., Brouwer, O., Callenbach, P., Covanis, A., Dooley, J., Dulac, O., Durner, M., Eeg-Olofsson, O., Feucht, M., Friis, M., Guerrini, R., Heils, A., Kjeldsen, M., Nabbout, R., Sander, T., Wirrell, E., McKeigue, P., Robinson, R., Taske, N., & Gardiner, M. (2007). Linkage and mutational analysis of CLCN2 in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Research*, 75(2-3), 145-53. doi:10.1016/j.eplepsyres.2007.05.004.

Falace, A., Filipello, F., La Padula, V., Vanni, N., Madia, F., De Pietri Tonelli, D., de Falco, F. A., Striano, P., Dagna Bricarelli, F., Minetti, C., Benfenati, F., Fassio, A., & Zara, F. (2010). TBC1D24, an ARF6-interacting protein, is mutated in familial infantile myoclonic epilepsy. *American Journal of Human Genetics*, 87, 365-370.

Fiest, K. M., Sauro, K. M., Wiebe, S., Patten, S. B., Kwon, C. S., Dykeman, J., Pringsheim, T., Lorenzetti, D. L., & Jetté, N. (2017). Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*, 88(3), 296-303. doi:10.1212/WNL.0000000000003509.

Fisher R. S., Cross J. H., French J. A., Higurashi N., Hirsch E., Jansen F. E., Lagae L., Moshé S. L., Peltola J., Roulet Perez E., Scheffer I. E., Zuberi S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4):522-530. doi: 10.1111/epi.13670.

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J. Jr., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475-82. doi:10.1111/epi.12550.

Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. Jr. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472. doi:10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x.

Gaitán-Peñas, H., Apaja, P. M., Arnedo, T., Castellanos, A., Elorza-Vidal, X., Soto, D., Gasull, X., Lukacs, G. L., & Estévez, R. (2017). Leukoencephalopathy-causing CLCN2 mutations are associated with impaired Cl⁻ channel function and trafficking. *Journal of Physiology*, 595(22), 6993-7008. doi:10.1113/JP275087.

Gastaut, H. (1969). Classification of the epilepsies. Proposal for an international classification. *Epilepsia*, 10, 14-21.

Gertler, T., Bearden, D., Bhattacharjee, A., & Carvill, G. (2018). KCNT1-Related Epilepsy. Adam, M. P., Ardinger, H. H., Pagon, R. A., et al., (Ed.). *GeneReviews*®, Seattle (WA): University of Washington.

Gilsoul, M., Grisar, T., Delgado-Escueta, A.V., de Nijs, L., & Lakaye, B. (2019), Subtle Brain Developmental Abnormalities in the Pathogenesis of Juvenile Myoclonic Epilepsy. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13, 433. doi:10.3389/fncel.2019.00433.

Gong, J. E., Liao, H. M., Long, H. Y., Li, X. M., Long, L. L., Zhou, L., Gu, W. P., Lu, S. H., Qu, Q., Yang, L. M., Xiao, B., & Qu, J. (2019). SCN1B and SCN2B gene variants analysis in dravet syndrome patients: Analysis of 22 cases. *Medicine (Baltimore)*, 98(13), e14974. doi:10.1097/MD.00000000000014974.

Groot Kormelink, P. J., & Luyten, W. H. (1997). Cloning and sequence of full-length cDNAs encoding the human neuronal nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) subunits beta3 and beta4 and expression of seven nAChR subunits in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y and/or IMR-32. *FEBS Letters*, 400(3), 309-14. doi:10.1016/s0014-5793(96)01383-x.

Gurnett, C. A., Veile, R., Zempel, J., Blackburn, L., Lovett, M., & Bowcock, A. (2008). Disruption of sodium bicarbonate transporter SLC4A10 in a patient with complex partial epilepsy and mental retardation. *Archives of Neurology*. 65(4), 550-553. doi:10.1001/archneur.65.4.550.

Guvener, A., Işık, A., & Ilbars, Z. (1995). Epidemiological, clinical and socio-cultural aspects of epilepsy as determined by a community-based survey in Central Anatolia. Kirbas D, Leonardi M (Ed.). *Neurology and Public Health, Reports of a WHO Meeting*, (s.128–140). Istanbul.

Haug, K., Warnstedt, M., Alekov, A. K., Sander, T., Ramírez, A., Poser, B., Maljevic, S., Hebeisen, S., Kubisch, C., Rebstock, J., Horvath, S., Hallmann, K., Dullinger, J. S., Rau, B., Haverkamp, F., Beyenburg, S., Schulz, H., Janz, D., Giese, B., Müller-Newen, G., Propping, P., Elger, C. E., Fahlke, C., Lerche, H., & Heils, A. (2003). Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nature Genetics*, 33(4), 527-32. doi:10.1038/ng1121.

Hedrich U. B. S., Lauxmann, S., & Lerche, H. (2019). SCN2A channelopathies: Mechanisms and models. *Epilepsia*, 3, 68–76. doi.org/10.1111/epi.14731.

Hesdorffer, D. C., Logroscino, G., Benn, E. K., Katri, N., Cascino, G., & Hauser, W. A. (2011). Estimating risk for developing epilepsy: a population-based study in Rochester, Minnesota. *Neurology*, 76(1), 23-7. doi:10.1212/WNL.0b013e318204a36a.

Ikeda, T., Ikeda, K., Enomoto, M., Park, M. K., Hirono, M., & Kamiya, R. (2005). The mouse ortholog of EFHC1 implicated in juvenile myoclonic epilepsy is an axonemal protein widely conserved among organisms with motile cilia and flagella. *FEBS Letters*, 579, 819–822. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.12.070>.

International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies. (2018) Genome-wide mega-analysis identifies 16 loci and highlights diverse biological mechanisms in the common epilepsies. *Nature Communications*, 9(1), 5269. doi:10.1038/s41467-018-07524-z.

Ivanova, N., Peycheva, V., Kamenarova, K., Kancheva, D., Tsekova, I., Aleksandrova, I., Hristova, D., Litvinenko, I., Todorova, D., Sarailieva, G., Dimova, P., Tomov, V., Bozhinova, V., Mitev, V., Kaneva, R., & Jordanova, A. (2018). Three novel SLC2A1 mutations in Bulgarian patients with different forms of genetic generalized epilepsy reflecting the clinical and genetic diversity of GLUT1-deficiency syndrome. *Seizure*, 54, 41-44. doi:10.1016/j.seizure.2017.11.014.

Jacobs, S., Ruusuvuori, E., Sipilä, S.T., Haapanen, A., Damkier, H.H., Kurth, I., Hentschke, M., Schweizer, M., Rudhard, Y., Laatikainen, L.M., Tyynelä, J., Praetorius, J., Voipio, J., & Hübner, C.A. (2008). Mice with targeted Slc4a10 gene disruption have small brain ventricles and show reduced neuronal excitability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(1), 311-6. doi:10.1073/pnas.0705487105.

Johannesen, K., Marini, C., Pfeffer, S., Møller, R.S., Dorn, T., Niturad, C.E., Gardella, E., Weber, Y., Søndergård, M., Hjalgrim, H., Nikanorova, M., Becker, F., Larsen, L.H., Dahl, H.A., Maier, O., Mei, D., Biskup, S., Klein, K.M., Reif, P.S., Rosenow, F., Elias, A.F., Hudson, C., Helbig, K.L., Schubert-Bast, S., Scordo, M.R., Craiu, D., Djémié, T., Hoffman-Zacharska, D., Caglayan, H., Helbig, I., Serratosa, J., Striano, P., De Jonghe, P., Weckhuysen, S., Suls, A., Muru, K., Talvik, I., Talvik, T., Muhle, H., Borggraefe, I., Rost, I., Guerrini, R., Lerche, H., Lemke, J.R., Rubboli, G., & Maljevic, S. (2016). Phenotypic spectrum of GABRA1: From generalized epilepsies to severe epileptic encephalopathies. *Neurology*, 87(11), 1140-1151. doi:10.1212/WNL.0000000000003087.

Karaagaç, N., Yeni, S. N., Senocak, M., Bozluolçay, M., Savrun, F. K., Ozdemir, H., & Cagatay, P. (1999). Prevalence of epilepsy in Silivri, a rural area of Turkey. *Epilepsia*, 40(5), 637-642. doi:10.1111/j.15281157.1999.tb05567.x.

Kasai, N., Fukushima, K., Ueki, Y., Prasad, S., Nosakowski, J., Sugata, K., Sugata, A., Nishizaki, K., Meyer, N. C., & Smith, R. J. (2001). Genomic structures of SCN2A and SCN3A - candidate genes for deafness at the DFNA16 locus. *Gene*, 264(1), 113-122. doi:10.1016/s0378-1119(00)00594-1.

Kodera, H., Ohba, C., Kato, M., Maeda, T., Araki, K., Tajima, D., Matsuo, M., Hino-Fukuyo, N., Kohashi, K., Ishiyama, A., Takeshita, S., Motoi, H., Kitamura, T., Kikuchi, A., Tsurusaki, Y., Nakashima, M., Miyake, N., Sasaki, M., Kure, S., Haginoya, K., Saitsu, H., & Matsumoto, N. (2016). De novo GABRA1 mutations in Ohtahara and West syndromes. *Epilepsia*, 57(4), 566-573. doi:10.1111/epi.13344.

Koutroumanidis, M. (2017). Idiopathic generalised epilepsies. Rugg-Gunn, F. J. & Stapley, H. B. (Ed.), *Epilepsy 2017 From Bench to Bedside A Practical Guide to Epilepsy Lecture Notes* (s. 149-168). *ILAE British Chapter*, University of Oxford Mathematical Institute

Lerche, H., Shah, M., Beck, H., Noebels, J., Johnston, D., & Vincent, A. (2013). Ion channels in genetic and acquired forms of epilepsy. *The Journal of Physiology*, 591(4), 753-764. doi: 10.1113/jphysiol.2012.240606.

Lin, L., Lyu, Q., Kwan, P.Y., Zhao, J., Fan, R., Chai, A., Lai, C.S.W., Chan, Y.S., Shen, X., & Lai, K.O. (2020). The epilepsy and intellectual disability-associated protein TBC1D24 regulates the maintenance of excitatory synapses and animal behaviors. *PLoS Genetics*, 16(1), e1008587. doi:10.1371/journal.pgen.1008587.

Lucarini, N., Verrotti, A., Napolioni, V., Bosco, G., & Curatolo, P. (2007). Genetic polymorphisms and idiopathic generalized epilepsies. *Pediatric Neurology*, 37(3), 157-164. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2007.06.001.

Łukawski, K., Andres-Mach, M., Czuczwar, M., Łuszczki, J.J., Kruszyński, K., & Czuczwar, S.J. (2018). Mechanisms of epileptogenesis and preclinical approach to antiepileptogenic therapies. *Pharmacological Reports*, 70(2), 284-293. doi:10.1016/j.pharep.2017.07.012.

Martínez-Juárez, I.E., Alonso, M.E., Medina, M.T., Durón, R.M., Bailey, J.N., López-Ruiz, M., Ramos-Ramírez, R., León, L., Pineda, G., Castroviejo, I.P., Silva, R., Mija, L., Perez-Gosiengfiao, K., Machado-Salas, J., & Delgado-Escueta, A.V. (2006). Juvenile myoclonic epilepsy subsyndromes: family studies and long-term follow-up. *Brain*, 129(5), 1269-1280. doi:10.1093/brain/awl048.

McDermott, L. A., Weir, G. A., Themistocleous, A. C., Segerdahl, A. R., Blesneac, I., Baskozos, G., Clark, A.J., Millar, V., Peck, L.J., Ebner, D., Tracey, I., Serra, J., & Bennett, D.L. (2019). Defining the Functional Role of NaV1.7 in Human Nociception. *Neuron*, 101(5), 905-919. doi:10.1016/j.neuron.2019.01.047.

Miller, I. O., & Sotero de Menezes, M. A. (2007). SCN1A Seizure Disorders. In M. P. Adam (Eds.) et. al., *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle.

Morey, M., Fernández-Marmiesse, A., Castiñeiras, D., Fraga, J.M., Couce, M.L., & Cocho, J.A. (2013). A glimpse into past, present, and future DNA sequencing. *Molecular Genetics and Metabolism*, 110(1-2), 3-24. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.04.024.

Mulligan, M.K., Abreo, T., Neuner, S.M., Parks, C., Watkins, C.E., Houseal, M.T., Shapaker, T.M., Hook, M., Tan, H., Wang, X., Ingels, J., Peng, J., Lu, L., Kaczorowski,

C.C., Bryant, C.D., Homanics, G.E., & Williams, R.W. (2019). Identification of a Functional Non-coding Variant in the GABA A Receptor $\alpha 2$ Subunit of the C57BL/6J Mouse Reference Genome: Major Implications for Neuroscience Research. *Frontiers in Genetics*, 10, 188. doi: 10.3389/fgene.2019.00188.

Murray CJ, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman AD, Michaud C, Ezzati M, Shibuya K, Salomon JA, Abdalla S, Aboyans V, Abraham J, Ackerman I, Aggarwal R, Ahn SY, Ali MK, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Bahalim AN, Barker-Collo S, Barrero LH, Bartels DH, Basáñez MG, Baxter A, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bernabé E, Bhalla K, Bhandari B, Bikbov B, Bin Abdulhak A, Birbeck G, Black JA, Blencowe H, Blore JD, Blyth F, Bolliger I, Bonaventure A, Boufous S, Bourne R, Boussinesq M, Braithwaite T, Brayne C, Bridgett L, Brooker S, Brooks P, Brugha TS, Bryan-Hancock C, Bucello C, Buchbinder R, Buckle G, Budke CM, Burch M, Burney P, Burstein R, Calabria B, Campbell B, Canter CE, Carabin H, Carapetis J, Carmona L, Cella C, Charlson F, Chen H, Cheng AT, Chou D, Chugh SS, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Criqui MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahiya M, Dahodwala N, Damsere-Derry J, Danaei G, Davis A, De Leo D, Degenhardt L, Dellavalle R, Delossantos A, Denenberg J, Derrett S, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dherani M, Diaz-Torne C, Dolk H, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Edmond K, Elbaz A, Ali SE, Erskine H, Erwin PJ, Espindola P, Ewoigbokhan SE, Farzadfar F, Feigin V, Felson DT, Ferrari A, Ferri CP, Fèvre EM, Finucane MM, Flaxman S, Flood L, Foreman K, Forouzanfar MH, Fowkes FG, Fransen M, Freeman MK, Gabbe BJ, Gabriel SE, Gakidou E, Ganatra HA, Garcia B, Gaspari F, Gillum RF, Gmel G, Gonzalez-Medina D, Gosselin R, Grainger R, Grant B, Groeger J, Guillemin F, Gunnell D, Gupta R, Haagsma J, Hagan H, Halasa YA, Hall W, Haring D, Haro JM, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Higashi H, Hill C, Hoen B, Hoffman H, Hotez PJ, Hoy D, Huang JJ, Ibeanusi SE, Jacobsen KH, James SL, Jarvis D, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Jonas JB, Karthikeyan G, Kassebaum N, Kawakami N, Keren A, Khoo JP, King CH, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Laden F, Lalloo R, Laslett LL, Lathlean T, Leasher JL, Lee YY, Leigh J, Levinson D, Lim SS, Limb E, Lin JK, Lipnick M, Lipshultz SE, Liu W, Loane M, Ohno SL, Lyons R, Mabweijano J, MacIntyre MF, Malekzadeh R, Mallinger L, Manivannan S, Marcenes W, March L, Margolis DJ, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGill N, McGrath J, Medina-Mora ME, Meltzer M, Mensah GA, Merriman TR, Meyer AC, Miglioli V, Miller M, Miller TR, Mitchell PB, Mock C, Mocumbi AO, Moffitt TE, Mokdad AA, Monasta L, Montico M, Moradi-Lakeh M, Moran A, Morawska L, Mori R, Murdoch ME, Mwaniki MK, Naidoo K, Nair MN, Naldi L, Narayan KM, Nelson PK, Nelson RG, Nevitt MC, Newton CR, Nolte S, Norman P, Norman R, O'Donnell M, O'Hanlon S, Olives C, Omer SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Page A, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Patten SB, Pearce N, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Pesudovs K, Phillips D, Phillips MR, Pierce K, Pion S, Polanczyk GV, Polinder S, Pope CA 3rd, Popova S, Porrini E, Pourmalek F, Prince M, Pullan RL, Ramaiah KD, Ranganathan D, Razavi H, Regan M, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Richardson K, Rivara FP, Roberts T, Robinson C, De Leòn FR, Ronfani L, Room R, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Saha S, Sampson U, Sanchez-Riera L, Sanman E, Schwebel DC, Scott JG, Segui-Gomez M, Shahraz S, Shepard DS, Shin H, Shrivastava R, Singh D, Singh GM, Singh JA, Singleton J, Sleet DA, Sliwa K, Smith E, Smith JL, Stapelberg NJ, Steer A, Steiner T, Stolk WA, Stovner LJ, Sudfeld C, Syed S, Tamburlini

G, Tavakkoli M, Taylor HR, Taylor JA, Taylor WJ, Thomas B, Thomson WM, Thurston GD, Tleyjeh IM, Tonelli M, Towbin JA, Truelsen T, Tsilimbaris MK, Ubeda C, Undurraga EA, van der Werf MJ, van Os J, Vavilala MS, Venketasubramanian N, Wang M, Wang W, Watt K, Weatherall DJ, Weinstock MA, Weintraub R, Weisskopf MG, Weissman MM, White RA, Whiteford H, Wiebe N, Wiersma ST, Wilkinson JD, Williams HC, Williams SR, Witt E, Wolfe F, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Zaidi AK, Zheng ZJ, Zonies D, Lopez AD, AlMazroa MA, & Memish ZA. (2012). Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380(9859), 2197-2223. doi:10.1016/S0140-6736(12)61689-4.

Myers, K. A., Johnstone, D. L., & Dymont, D. A. (2019). Epilepsy genetics: Current knowledge, applications, and future directions. *Clinical Genetics*, 95(1), 95-111. doi: 10.1111/cge.13414.

Nicita, F., De Liso, P., Danti, F. R., Papetti, L., Ursitti, F., Castronovo, A., Allemand, F., Gennaro, E., Zara, F., Striano, P., & Spalice, A. (2012). The genetics of monogenic idiopathic epilepsies and epileptic encephalopathies. *Seizure*, 21(1), 3-11. doi:10.1016/j.seizure.2011.08.007.

Nordli DR, Jr. (2005). Idiopathic generalized epilepsies recognized by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*, 46(9), 48-56. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.00313.x.

Onal, A.E., Tumerdem, Y., Ozturk, M.K., Gurses, C., Baykan, B., Gokyigit, A., & Ozel, S. (2002). Epilepsy prevalence in a rural area in Istanbul. *Seizure* 11, 397-401.

Ozdemir, Z. (1995). Prevalence and clinical features of epilepsy in a rural area of Sivas province, Turkey. *Neurology and Public Health*. D. Kirbas and M. Leonardi (Eds). *Reports of a WHO Meeting*, (s. 141–143). Istanbul.

Panayiotopoulos, C. P. (2008). Typical absence seizures and related epileptic syndromes: assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia*, 49(12), 2131-2139. doi:10.1111/j.1528167.2008.01777.x.

Parihar, R., & Ganesh, S. (2013). The SCN1A gene variants and epileptic encephalopathies. *The Journal of Human Genetics*, 58(9), 573-580. doi:10.1038/jhg.2013.77.

Park, S.T., & Kim, J. (2016). Trends in Next-Generation Sequencing and a New Era for Whole Genome Sequencing. *International neurology journal*, 20(2), 76-83. doi:10.5213/inj.1632742.371.

Patino, G.A., Claes, L.R., Lopez-Santiago, L.F., Slat, E.A., Dondeti, R.S., Chen, C., O'Malley, H.A., Gray, C.B., Miyazaki, H., Nukina, N., Oyama, F., De Jonghe, P., & Isom, L.L. (2009). A functional null mutation of SCN1B in a patient with Dravet syndrome. *Journal of Neuroscience*, 29(34), 10764-10778. doi:10.1523/JNEUROSCI.2475-09.2009.

Perucca, P., Bahlo, M., & Berkovic, S.F. (2020). The Genetics of Epilepsy. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 21, 205-230. doi:10.1146/annurev-genom-120219-074937.

Prasad D. K. V., Satyanarayana, U., & Munshi, A. (2013). Genetics of idiopathic generalized epilepsy: An overview. *Neurology India*, (61)6, 572-577.

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., & Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*, 17(5), 405–423. doi:10.1038/gim.2015.30.

Saint-Martin, C., Gauvain, G., Teodorescu, G., Gourfinkel-An, I., Fedirko, E., Weber, Y. G., Maljevic, S., Ernst, J. P., Garcia-Olivares, J., Fahlke, C., Nabbout, R., LeGuern, E., Lerche, H., Poncer, J. C., & Depienne C. (2009) Two novel CLCN2 mutations accelerating chloride channel deactivation are associated with idiopathic generalized epilepsy. *Human Mutation*. 30(3), 397-405. doi:10.1002/humu.20876.

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463.

Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovillam G., Connollym M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512-521. doi: 10.1111/epi.13709.

Scheffer, I. E., & Nabbout, R. (2019). SCN1A- related phenotypes: epilepsy and beyond. *Epilepsia*, 60(3), 17–24.

Scholl, U. I., Stölting, G., Schewe, J., Thiel, A., Tan, H., Nelson-Williams, C., Vichot, A.A., Jin, S.C., Loring, E., Untiet, V., Yoo, T., Choi, J., Xu, S., Wu, A., Kirchner, M., Mertins, P., Rump, L.C., Onder, A.M., Gamble, C., McKenney, D., Lash, R.W., Jones, D.P., Chune, G., Gagliardi, P., Choi, M., Gordon, R., Stowasser, M., Fahlke, C., & Lifton, R.P. (2018). CLCN2 chloride channel mutations in familial hyperaldosteronism type II. *Nature Genetics*. 50(3), 349-354. doi: 10.1038/s41588-018-0048-5.

Serdaroğlu, A., Ozkan, S., Aydin, K., Gücüyener, K., Tezcan, S., & Aycan, S. (2004). Prevalence of epilepsy in Turkish children between the ages of 0 and 16 years. *Journal of child neurology*, 19(4), 271-274. doi:10.1177/088307380401900406.

Sinning, A., Liebmann, L., & Hübne, C. A. (2015). Disruption of Slc4a10 augments neuronal excitability and modulates synaptic short-term plasticity. *Front Cell Neuroscience*, 9(223), doi:10.3389/fncel.2015.00223.

Spillane, J., Kullmann, D. M., & Hanna, M. G. (2016). Genetic neurological channelopathies: molecular genetics and clinical phenotypes. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 87(1), 37-48. doi:10.1136/jnnp-2015-311233.

Stafstrom, C. E., & Carmant, L., (2015). Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(6), doi:10.1101/cshperspect.a022426.

Stafstrom, C.E., Hagerman, P.J., & Pessah, I.N. (2010). Epilepsy in autism spectrum disorders. *Epilepsia*, 51, 78. doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02864.x

Steinlein, O.K., Mulley, J.C., Propping, P., Wallace, R.H., Phillips, H.A., Sutherland, G.R., Scheffer, I.E., & Berkovic, S.F. (1995). A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal

dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature Genetics*, 11(2), 201-203. doi:10.1038/ng1095-201.

Steudle, F., Rehman, S., Bampali, K., Simeone, X., Rona, Z., Hauser, E., Schmidt, W. M., Scholze, P., & Ernst, M. (2020). A novel de novo variant of GABRA1 causes increased sensitivity for GABA in vitro. *Scientific Reports Nature*, 10(1), 2379. doi:10.1038/s41598-020-59323-6.

Stölting, G., Fischer, M., & Fahlke, C. (2014). CLC channel function and dysfunction in health and disease. *Frontiers in Physiology*, 5, 378. doi:10.3389/fphys.2014.00378.

Suls, A., Velizarova, R., Yordanova, I., Deprez, L., Van Dyck, T., Wauters, J., Guergueltcheva, V., Claes, L. R. F., Kremensky, I., Jordanova, A., & De Jonghe, P. (2010). Four generations of epilepsy caused by an inherited microdeletion of the SCN1A gene. *Neurology*, 75(1), 72-76. doi:10.1212/WNL.0b013e3181e62088.

Suzuki, T., Delgado-Escueta, A. V., Aguan, K., Alonso, M. E., Shi, J., Hara, Y., Nishida, M., Numata, T., Medina, M. T., Takeuchi, T., Morita, R., & Bai, D. (2004). Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nature Genetics*, 36, 842-849.

Symonds, J. D., & McTague, A. (2019). Epilepsy and developmental disorders: Next generation sequencing in the clinic. *European Journal of Paediatric Neurology*, 24, 15-23. doi:10.1016/j.ejpn.2019.12.008.

Tiwari, P., Dwivedi, S., Singh, M.P., Mishra, R., & Chandy, A. (2013). Basic and modern concepts on cholinergic receptor: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, (3)5, 413–420. doi:10.1016/S22221808(13)60094-8.

Trivisano, M., Terracciano, A., Milano, T., Cappelletti, S., Pietrafusa, N., Bertini, E. S., Vigeveno, F., & Specchio, N. (2015). Mutation of CHRNA2 in a family with benign familial infantile seizures: potential role of nicotinic acetylcholine receptor in various phenotypes of epilepsy. *Epilepsia*, 56, 53-57.

Üstyol, A., Takahashi, S., Hatipoğlu, H. U., Duman, M. A., Elevli, M., & Duru, H. N. D. (2019). A novel mutation in SLC2A1 gene causing GLUT-1 deficiency syndrome in a young adult patient. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 61, 946-948. doi:10.24953/turkjped.2019.06.018.

Van Dijk, E. L., Auger, H., Jaszczyszyn, Y., & Thermes, C. (2014) Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends in Genetics*, (30)9, 418-426. doi:10.1016/j.tig.2014.07.001.

Van Loo, K.M.J., & Becker, A. J. (2020). Transcriptional Regulation of Channelopathies in Genetic and Acquired Epilepsies. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 587. doi:10.3389/fncel.2019.00587.

Velioglu, S. K., Bakirdemir, M., Can, G., & Topbas, M. (2010). Prevalence of epilepsy in northeast Turkey. *Epileptic Disorders*, 12, 22–37. doi.org/10.1684/epd.2010.0298.

Wang H, Xu M, Kong Q, Sun P, Yan F, Tian W, & Wang X. (2017). Research and progress on CLC-2 (Review). *Molecular Medicine Reports*, 16(1), 11-22. doi:10.3892/mmr.2017.6600.

Wang, D., Kranz-Eble, P., & De Vivo, D. C. (2000). Mutational analysis of GLUT1 (SLC2A1) in Glut-1 deficiency syndrome. *Human Mutations* 16, 224-231. doi:10.1002/1098-1004(200009)16:3<224::AID-HUMU5>3.0.CO;2-P

Wang, J. L., Zhao, L., Zhu, J., Wang, D. K., Ren, M. J., Wang, M., Liu, Y., Boron, W. F., & Chen, L. M. (2019). Expression, Localization, and Effect of High Salt Intake on Electroneutral Na⁺/HCO₃⁻ Cotransporter NBCn2 in Rat Small Intestine: Implication in Intestinal NaCl Absorption. *Frontiers in Physiology*, 29(10), 1334. doi:10.3389/fphys.2019.01334.

Wang, J., Lin, Z. J., Liu, L., Xu, H. Q., Shi, Y. W., Yi, Y. H., He, N., & Liao, W. P. (2017). Epilepsy-associated genes. *Seizure*, 44, 11-20. doi:10.1016/j.seizure.2016.11.030.

Wehner, T. (2017). Classification and terminology to organise seizures and epilepsy, Chapter 2. Rugg-Gunn, F. J. & Stapley, H. B. (Ed.). *Epilepsy 2017 From Bench to Bedside A Practical Guide to Epilepsy Lecture Notes. Sixteenth Epilepsy Teaching Weekend 2017*, University of Oxford Mathematical Institute

Wei, F., Yan, L. M., Su, T., He, N., Lin, Z. J., Wang, J., Shi, Y. W., Yi, Y. H., & Liao, W. P. (2017). Ion Channel Genes and Epilepsy: Functional Alteration, Pathogenic Potential, and Mechanism of Epilepsy. *Neuroscience Bulletin*, 33(4), 455-477. doi:10.1007/s12264-017-0134-1.

Weir, C. J., (2020). Ion channels, receptors, agonists and antagonists. *Pharmacology*, 21(1), 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.10.022>.

Yoo, Y., Jung, J., Lee, Y.N., Lee, Y., Cho, H., Na, E., Hong, J., Kim, E., Lee, J.S., Lee, J.S., Hong, C., Park, S.Y., Wie, J., Miller, K., Shur, N., Clow, C., Ebel, R.S., DeBrosse, S.D., Henderson, L.B., Willaert, R., Castaldi, C., Tikhonova, I., Bilgüvar, K., Mane, S., Kim, K.J., Hwang, Y.S., Lee, S.G., So, I., Lim, B.C., Choi, H.J., Seong, J.Y., Shin, Y.B., Jung, H., Chae, J.H., & Choi, M. (2017). GABBR2 mutations determine phenotype in rett syndrome and epileptic encephalopathy. *Annals of neurology*, 82(3), 466-478. doi:10.1002/ana.25032.

Zara, F., Gennaro, E., Stabile, M., Carbone, I., Malacarne, M., Majello, L., Santangelo, R., de Falco, F. A., & Bricarelli, F. D. (2000) Mapping of a locus for a familial autosomal recessive idiopathic myoclonic epilepsy of infancy to chromosome 16p13. *The American Journal of Human Genetics*, 66(5), 1552-1557. doi:10.1086/302876.

Zhang, J., Chen, J., Zeng, Q., Zhang, L., Tian, X., Yang, X., Yang, Z., Wu, Y., Wu, X., & Zhang, Y. (2019). Infantile epilepsy with multifocal myoclonus caused by TBC1D24 mutations. *Seizure*, 69, 228-234. doi:10.1016/j.seizure.2019.05.010.

Zhang, T., Chen, M., Zhu, A., Zhang X., & Fang, T. (2020). Novel mutation of SCN9A gene causing generalized epilepsy with febrile seizures plus in a Chinese family. *Neurological Sciences*, 41, 1913–1917. <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04284-x>

BÖLÜM 8

EKLER



Ek-1**İdiyopatik Jeneralize Epilepsi Hasta Değerlendirme Formu**

Tarih	
Protokol No	
Hasta Adı-Soyadı	
Doğum Tarihi-Yeri	
İletişim Bilgileri (Tel No / E-Mail)	
Cinsiyeti	

Hastalığa İlişkin Özellikler	
Hastalık başlangıç yaşı	
Tanı süresi (ay)	
Epileptik nöbet tipi	Sekonder jeneralize Absans Tonik-klonik Tonik Klonik Myoklonik Myoklonik-tonik-klonik Myoklonik-atonik Atonik Sınıflandırılmayan
İJE başlığı altında tanımlanan sendrom tipi var mı? (ILAE kriterlerine göre)	Selim ailesel yenidoğan konvulzuyonları (SAYK) Selim yenidoğan konvulzuyonları (SYK) Çocukluk çağı selim miyoklonik epilepsi (CSME) Çocukluk çağı absans epilepsisi (CCAE) Juvenil absans epilepsisi (JAE) Juvenil miyoklonik epilepsi (JME) Uyanırken gelen JK nöbetleri (UGJK) Miyoklonik absanslı epilepsi (MAE) Febril nöbet artı jeneralize epilepsi (FNJE)
Son 1 yıldaki nöbet sıklığı	Nöbet geçirmemiş Ayda bir nöbetten az Ayda bir nöbetten fazla
En son nöbet geçirme zamanı	0-1 ay 2-6 ay 7-12 ay 13 ay ve daha fazla
Nöbeti tetikleyen faktörler	Var Yok
Nöbeti tetikleyen faktörler	Stres Uykusuzluk Yorgunluk

	Gürültü Adet dönemi Alkol (.....) TV seyretme, bilgisayar Kitap okuma Diğer (sevinç, açlık, ışık, sigara, yüksek ateş)
Epilepsi dışında başka bir hastalığınız var mı?	Var (.....) Yok
İlaç Kullanım Durumu	
Kullandığı anti-epileptik ilaç	
İlaç Etkinliği, Yan etkiler	
Risk Faktörleri	
Doğum kilosu	
Doğum komplikasyonları	
Gelişme Dönemi	
MSS enfeksiyon öyküsü	Var..... Yok
Kafa Travması öyküsü	Var..... Yok
Febril konvulsiyon öyküsü	Var..... Yok
Ailede başka epilepsi hasta var mı?	Var.....
Yakınlık derecesi	Yakınlık derecesi..... Yok
Tıbbi Kayıt	
EEG bilgileri	
BT görüntüleme bulguları	
MRI görüntüleme bulguları	
Laboratuvar bulguları	
Sosyal Durumu	
Medeni Durumu	Bekar / Evli /
Eğitim Durumu	
İş Durumu	
Alkol Kullanımı	
Sigara Kullanımı	

Ek-2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (AÇIK AD.....) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** İdiyopatik jeneralize epilepsi tanısı alan olguların yeni nesil sekanslama yöntemi ile genetik etiyolojisinin araştırılması
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Sebebi bilinmeyen epilepsi nöbeti olan hastalarda belirli genlerin genetik analizleri
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Öğr. Gör. Engin ATLI – Tıbbi Genetik A.B.D
Araştırmanın amacı: Sebebi bilinmeyen epilepsi hastalığının nedenlerini incelemek ve tanı için fayda sağlayabilecek testler geliştirmek
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Klinik ve laboratuvar çalışması
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Haziran 2018- Haziran 2020
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** Haziran 2018-Haziran 2019 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde ve Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı polikliniğinde idiyopatik jeneralize epilepsi tanısı alan ve çalışmaya dâhil edilme kriterlerine uyan hastaların tamamı çalışmaya dâhil edilecektir. Bu bağlamda örneklem büyüklüğü çalışma tamamlandıktan sonra belirlenecektir.
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dâhil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Gönüllülere hiçbir ek işlem uygulanmayacaktır. Hastanede başvuruları sırasında tetkik maksadıyla alınan kanların arta kalan kısımlarından çalışılacaktır.
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Alınan örnekler uygun koşullarda saklanacak ve sonrasında incelemeye tabi tutulacaktır.
- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Farklı bir uygulama ve girişim bulunmamaktadır.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu (TU_BAEK)
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
14 Nisan 2014 v1.0

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

Sayfa 1/4

**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Sebebi bilinmeyen epilepsi nöbetleri nedeniyle hastaneye başvuran hastalar çalışmaya dahil edilecektir.
 - **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Bilimsel bir çalışmaya katkıda bulunarak epilepsi hastalığının araştırılmasına katkıda bulunacaktır.
 - **Gönüllünün sorumlulukları:** Herhangi bir sorumluluk yoktur.
 - **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetus veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Herhangi bir risk yoktur.
 - **Risklere karşı alınan önlemler:** Çalışmada herhangi bir risk faktörü yoktur.
 - **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Ek yöntem bulunmamaktadır.
 - **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Hastaya araştırmaya bağlı ek bir işlem yapılmayacaktır.
 - **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Çalışmamız gönüllülük esasına dayandığı için hastalara herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.
 - **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Gönüllüler çalışma sürecinde istedikleri zaman çalışmadan ayrılabilirler.
 - **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Talep doğrultusunda bilgilendirilecektir.
 - **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Öğr. Gör. Engin Atlı-0 284 2352336
 - **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Sebebi bilinmeyen epilepsi hastalığının nedenlerinin araştırılması için kullanılacak
 - **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:**
- 1.1** “...İdiyopatik jeneralize epilepsi tanısı alan olguların yeni nesil sekanslama yöntemi ile genetik etiyolojisinin araştırılması ” araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar, vb...);

Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

☐ **İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.**

☐ **Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.**

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyim ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum.

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu (TU_BAEK)
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
14 Nisan 2018 v1.0

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

Sayfa 3/4

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- **Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)**

Veli ya da Vasisin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu (TU_BAEK)
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
14 Nisan 2014 v1.0

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

Sayfa 4/4

Ek 3

Etik Kurul Formu

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2018/125	
	PROTOKOL ADI	İdiyopatik Jeneralize Epilepsi Tanısı Alan Olguların Yeni Nesil Sekanslama Yöntemi ile Genetik Etiyolojisinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI / ADI	Doç. Dr. H G	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06/10	Tarih: 02.04.2018	
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmanın araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudan oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
CALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

OYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. U V Ö. Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi R K Ç. Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi R D T. Üye	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi F N T. Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. H G Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. H Ö Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi O K Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. C S Z. Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. M E Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. N C S. Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. S H Ş. Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. A S Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat G Ü Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E H	E H	
Emekli Öğretmen S S Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. A T
Zeynep a.
Zeynep A rd.

BÖLÜM 9

ÖZGEÇMİŞ

ÖZGEÇMİŞ FORMU

Ad:	Engin
Soyadı:	Atlı
Görev Yeri:	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
Yabancı Dil:	İngilizce

Tarih	Eğitim
2015-2021	Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Doktora
2005-2008	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans
2001-2005	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Akademik Unvanları	
2015-Halen	Öğretim Görevlisi

Uluslararası Hakemli Dergi Makaleleri:

1- Demir, S., Tozkir, H., Gurkan, H., Atli, E. İ., Yalcintepe, S., **Atli, E.**, Sezer, Y. A., Eker, D., Tuncbilek, N., Tastekin, E., Ozen, Y., Cicin, I. (2020). Genetic screening results of individuals with high risk BRCA-related breast/ovarian cancer in Trakya region of Turkey. *Journal of Balkan Union of Oncology*.

2- Yalcintepe, S., Gurkan, H., Demir, S., Tozkir, H., Tezel, H. A., Atli, E. İ., **Atli, E.**, Eker, D., Cicin, I. (2020). Targeted next-generation sequencing as a diagnostic tool in

gastrointestinal system cancer/polypsis. *Tumori Journal*. doi: 10.1177/0300891620919171.

3- Gurkan, H., Atli, E. İ., **Atli, E.**, Bozatli, L., Altay, M. A., Yalçintepe, S., Ozen, Y., Eker, D., Mail, C., Demir, S., Gorker, I. (2020). Routine Chromosomal Microarray Analysis Is Necessary in Turkish Patients with Unexplained Developmental Delay/Intellectual Disability Disorder. *Archives Of Neuropsychiatry*. doi: 10.29399/npa.24890.

4- Uzun Cilingir, I., Varol, F., Gurkan, H., Sutçu, H., **Atli, E.**, Eker, D., Inan, C., Erzincan, S. (2019). Placental and serum levels of human Klotho in severe preeclampsia: A potential sensitive biomarker. *Placenta*, 85, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.08.084>.

5- Ulusal Demir, S., Gurkan, H., **Atli, E.**, Ozal, S. A., Ciftdemir, M., Tozkiir, H., Karal, Y., Guclu, H., Eker, D., Görker, I. (2017). Genetic Analyses Of The Nf1 Gene In Turkish Neurofibromatosis Type I Patients And Definition Of Three Novel Variants. *Balkan Journal of Medical Genetics*, 20(1), 13. doi: 10.1515/bjmg-2017-0008.

Uluslararası Hakemli Kongre ve Sempozyum Bildirileri:

1- **Atli, E.**, Gurkan, H., Atli, E. I., Demir, S., Yalcintepe, S., Eker, D., Ozen, Y., Tozkiir, H. (2019). Novel MID1 mutation in a patient with X-linked Opitz G/BBB Syndrome. *13th Balkan Congress of Human Genetics*.

2- Gurkan, H., **Atli, E.**, Atli, E. I., Demir, S., Ozen, Y., Tozkiir, H., Eker, D., Akurut, C., Karal, Y., Gorker, I. (2018). Different phenotype with 22q13.3 deletion syndrome in two patients. *European Society of Human Genetics Conference*.

3- **Atli, E.**, Gurkan, H., Atli, E. I., Ozen, Y., Eker, D., Akurut, C., Demir, S., Tozkiir, H. (2018). 17q22 microdeletion detected by array-CGH leading to NOG-related symphalangism spectrum disorder (NOG-SSD). *European Society of Human Genetics Conference*.

4- Atli, E. I., Gurkan, H., **Atli, E.**, Ozen, Y., Gorker, I., Eker, D., Akurut, C. (2018). Combined Partial Trisomy 7q and Partial Monosomy 21q in a 6 Year Old Male Patient Phenotypic and Genotypic Findings. *European Society of Human Genetics Conference*.

5- Tozkiir, H., Demir, S., Gurkan, H., Eker, D., **Atli, E.** (2018). Genetic diagnosis of bone mineralisation disorders with Next Generation Sequencing and definition of five novel pathogenic variations. *European Society of Human Genetics Conference*.

6- Demir, S., Tozgir, H., Gurkan, H., **Atli, E.**, Eker, D., Tezel, H. A., Sezer, Y. A., Cicin, I., Karlikaya, H. C., Karamustafaoglu, Y. A. (2018). Screening for germline variations of cancer related genes in patients with the diagnosis of different cancers and hereditary cancer predisposition syndromes. *European Society of Human Genetics Conference*.

7- Gurkan, H., Gorker, I., **Atli, E.**, Atli, E. I., Demir Ulusal, S., Eker, D., Tozgir, H. (2017). Array CGH analysis in patents with intellectual disability/developmental delay in Turkish Children living in Trakya Region. *European Society of Human Genetics Conference*.

Ulusal Yayınlar

1- Tepeli, E., Müslümanoglu M. H., Uludag A., Atli E., Uzun D., Artan S. (2007). Eskişehir ilinde idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları ile Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Osmangazi Tıp Dergisi*; 29:1-11