

**UNIVERZITET U BEOGRADU**

MEDICINSKI FAKULTET

Maša M. Kovačević

**ZNAČAJ GENETSKE ANALIZE U DEFINISANJU  
ETIOLOGIJE BOLESTI KOD PACIJENATA SA  
FOKALNOM EPILEPSIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2024



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Маша М. Ковачевић

**ЗНАЧАЈ ГЕНЕТСКЕ АНАЛИЗЕ У  
ДЕФИНИСАЊУ ЕТИОЛОГИЈЕ БОЛЕСТИ  
КОД ПАЦИЈЕНАТА СА  
ФОКАЛНОМ ЕПИЛЕПСИЈОМ**

докторска дисертација

Београд, 2024



**UNIVERSITY OF BELGRADE**

FACULTY OF MEDICINE

Maša M. Kovačević

**CONTRIBUTION OF GENETIC ANALYSIS IN  
DEFINING DISEASE ETIOLOGY IN PATIENTS  
WITH FOCAL EPILEPSY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024



Mentor disertacije: prof. dr Nikola Vojvodić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Komentor disertacije: prof. dr Ivana Novaković, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:

1. Prof. dr Dragoslav Sokić, predsednik komisije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Aleksandar Ristić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Ksenija Gebauer-Bukurov, Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Datum odbrane: \_\_\_\_\_





*Mom tati*



## **Zahvalnost**

*Na prvom mestu dugujem zahvalnost svom mentoru i prijatelju, prof. dr Nikoli Vojvodiću, uz koga sam naučila da volim epileptologiju. Hvala za veliko strpljenje i spremnost da podržiš sve moje napore kako tokom izrade ove disertacije, tako i tokom čitavog trajanja mog profesionalnog života.*

*Veliku zahvalnost dugujem svojoj komentorki, prof. dr Ivani Novaković uz čiju dobronamernu patronažu sam naučila da razumem, a potom i zavolim genetiku.*

*Zahvaljujem se članovima tima Laboratorije za genetičku i molekularnu dijagnostiku Klinike za neurologiju, dr sci. Mileni Janković i dr sci. Mariji Branković sa kojima je bilo zadovoljstvo saradivati.*

*Zahvaljujem se mojim učiteljima, prof. dr Dragoslav Sokiću, pod čijim rukovodstvom sam se profesionalno oblikovala, kao i doc. dr Aleksandru Ristiću, prim. dr Slavku Jankoviću, doc. dr Ivani Berisavac i doc. dr Marku Ercegovcu. Hvala na prilici da koračam vašim stopama.*

*Zahvaljujem se svim kolegama sa kojima sam profesionalno odrastala na čiju bezrezervnu stručnu pomoć i prijateljstvo sam uvek mogla da računam, a posebno doc. dr Gorani Mandić Stojmenović, assist. dr Oliveri Tamaš i assist. dr Tamari Švabić Međedović. Bila je privilegija stasati uz vas.*

*Posebno hvala mom najboljem drugu, asist. dr Ognjenu Milićeviću, bez čijeg jedinstvenog uvida izrada ove disertacije ne bi bila moguća. Hvala na svim prošlim i budućim danima.*

*Najlepše hvala svim pacijentima koji su pristali da učestvuju u ovoj studiji.*

*Na kraju, verovatno najveću zahvalnost dugujem svojim najmilijima koji daju smisao svemu što činim.*

*Mami i tati na večitoj spremnosti da pomognu svojoj devojčici.*

*Mom Marku na nesebičnoj ljubavi i razumevanju.*

*Nini i Leni koje su mi svakodnevna inspiracija.*



*Posebno se zahvaljujem koautorima naučnih radova koji su rezultat istraživanja sprovedenog u okviru ove disertacije. Hvala prof. dr Nikoli Vojvodiću na pomoći pri konceptualizaciji, formulaciji metodologije, kao i finalnoj izradi radova. Hvala prof. dr Ivani Novaković, dr Mileni Janković i dr Mariji Branković na pomoći pri koncipiranju strategije testiranja i molekularno-genetičkoj obradi materijala. Hvala prof. dr Dragoslavu Sokiću, doc. dr Aleksandru Ristiću, doc. dr Ivani Berisavac, doc. dr Marku Ercegovcu prof. dr Nikoli Vojvodiću na pomoći pri selekciji i prikupljanju materijala. Hvala dr Ognjenu Milićeviću i dr Jannah Shamsani na informatičkoj obradi i pomoći pri interpretaciji rezultata.*



## Sažetak

**Uvod:** Fokalna epilepsija (FE) je najčešći tip epilepsije koji je povezan sa rezistencijom na antiepileptičke lekove (AEL) i perzistentnim napadima. Najznačajniji prediktor toka bolesti, kao i odgovora na AEL, ali i ishod hirurškog lečenja, je etiologija bolesti. Moderan koncept etiološke kategorizacije obolelih se udaljio od dugogodišnje dogme bazirane na rigidnim i međusobno isključivim kategorijama i dozvoljava preklapanje više etioloških kategorija definisanih različitim dijagnostičkim modalitetima. Magnetna rezonancija (MR) mozga je načinila ključni korak u razumevanju strukturne etiologije FE i omogućila razlikovanje bolesnika sa verovatno stečenom FE (SFE) i onih sa nestečenom FE (NSFE) u kojoj značajan uticaj u nastanku bolesti imaju genetske determinante. Slično tome, sekvenciranje nove generacije (NGS) je, učinivši molekularno-genetičko testiranje pristupačnim i široko dostupnim, omogućilo akumulaciju znanja o doprinosu genskih varijanti u nastanku FE, a samim tim i složenoj interakciji genetskih i strukturnih činioca u nastanku FE. U tom smislu je razumevanje zastupljenosti različitih strukturnih etiologija kao i njihovom odnosu sa familijarnom pojavom bolesti i vremenom početka epilepsije, koje su od ranije ustanovljeni prediktori genetskog oboljenja, ali i akumulacija znanja o spektru genskih varijanti u nastanku FE i njihovih kliničkih i radioloških korelacija ključni za bolje razumevanje etiopatogeneze FE, a samim tim i njene prognoze i ishoda lečenja.

**Ciljevi:** Ciljevi ove studije su bili (1) Utvrđivanje učestalost NSFE u grupi pacijenata ispitivanih u centru za epilepsiju zdravstvene ustanove tercijernog nivoa; (2) Utvrđivanje učestalosti pozitivne porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje među pacijentima sa NSFE i SFE; (3) Utvrđivanje kliničkih i radioloških karakteristika bolesnika sa NSFE i SFE; (4) Utvrđivanje kliničkih i radioloških karakteristika bolesnika sa NSFE i to sa i bez pozitivne porodične anamneze; (5) Utvrđivanje učestalosti ultra-retkih varijanti u najčešćim genima povezanim sa nastankom FE, u ispitivanoj grupi pacijenata sa NSFE; (6) utvrđivanje kliničkih, radioloških i elektroencefalografskih karakteristika nosilaca varijanti u selektovanim genima.

**Metode:** Analizirani su svi pacijenti ispitivani u Centru za epilepsije, Klinike za neurologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije u periodu između 01. aprila 2008. i 01. novembra 2019. godine. Učinjena je retrospektivna studija preseka sa ugnježdenom molekularno-genetičkom studijom. Dijagnostička evaluacija je podrazumevala višednevni video-elektroencefalografski monitoring i MR mozga od 1,5T. Strukturna etiološka dijagnoza je definisana na osnovu MR nalaza, dok je lobarna dijagnoza bazirana na principu podudarnosti rezultata evaluacije. Pacijenti oboleli od nelezionne fokalne epilepsije (NLFE), kao i oni oboleli od FE udružene sa hipokampalnom sklerozom (HS) ili kongenitalnom ili perinatalnom etiologijom (KPE) su klasifikovani kao oboleli od NSFE, dok su oboleli od epilepsije udružene sa tumorima, gliozom, autoimunim bolestima ili vaskularnim malformacijama klasifikovani kao oboleli od SFE. Poređeno je prisustvo pozitivne porodične anamneze na epilepsiju i srodna poremećaja kod srodnika do III stepena srodstva, starost na početku epilepsije kao i lobarna dijagnoza kod obolelih od NSFE i SFE, a poređeni su i bolesnici sa NSFE sa i bez porodične anamneze. Sprovedena je ugnježdena molekularno-genetička analiza pomoću Illumina NGS platforme pomoću panela po porudžbini koji je konstituisan od pet gena definisana kao značajni u nastanku FE u studiji Epi4K (*DEPDC5*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A* i *PCDH19*), kao i preostala dva gena koja uz *DEPDC5* konstituišu gene GATOR1 kompleksa (*NPRL2* i *NPRL3*). U ovu studiju je uključeno 96 pacijenata sa kliničkom sumnjom na epilepsiju izazvanu selektovanom baterijom gena što je podrazumevalo obolele od NLFE ili obolele od NSFE udružene sa HS i fokalne kortikalne displazije (FCD) sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje je. Varijante od interesa (VOI) su identifikovane primenom algoritma Broad instituta. Klasifikacija kliničkog značaja VOI vršena je prema kriterijumima Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku i Udruženja za molekularnu patologiju. Kliničke i radiološke karakteristike nosioca varijanti su poređene sa pacijentima koji nisu nosioci varijanti.

**Rezultati:** Među 1345 konsektivnih pacijenata Centra za epilepsije identifikovano je 965 pacijenata sa dijagnozom FE od kojih je približno tri četvrtine imalo NSFEE (74,2%). Oboleli od NSFEE su imali duže trajanje bolesti (17 vs. 11 godina,  $p < 0,001$ ) i češće su imali epilepsiju temporalnog režnja (TLE) u odnosu na pacijente sa SFE (42,6% vs. 34,0%,  $p < 0,001$ ). Oboleli od NSFEE su značajno češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu u odnosu na obolele od SFE kada su posmatrane sve dijagnoze (19,1% vs. 9,2%,  $p < 0,001$ ) kao i kada je posmatrana samo epilepsija (16,1% vs. 8,4%,  $p < 0,003$ ) kod srodnika. Pacijenti sa NLFE (23,7% vs. 9,2%,  $p < 0,001$ ) i HS (15,5% vs. 9,2%,  $p = 0,028$ ) su značajno češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodne poremećaje u odnosu na obolele od SFE. Pacijenti sa SFE su imali najviše dva obolela srodnika (tri pacijenta), dok su oboleli od NLFE imali najviše sedam obolelih srodnika (dva pacijenta), oboleli sa HS (dva pacijenta) i KPE (jedan pacijent) najviše četiri obolela srodnika. Oboleli od NSFEE su značajno češće bolovali od TLE (63,9% vs. 47,5%,  $p < 0,001$ ) i ređe bolovali od ekstratemporalne epilepsije (ETLE, 36,1% vs. 52,5%,  $p < 0,001$ ) u odnosu na pacijente sa SFE. Pacijenti sa NLFE su češće imali TLE (50,7%) dok su epilepsiju frontalnog režnja (FLE) i epilepsiju posteriornog kvadranta (PQE) češće imali pacijenti sa SFE (26,8% i 23,5%,  $p < 0,001$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u distribuciji lobarnih dijagnoza kod pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje. Celokupna grupa pacijenata sa NSFEE je imala značajno raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE (13 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ). Pacijenti sa HS (12 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ) i KPE (11 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ) su imali značajno raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE, dok ova razlika nije bila statistički značajna između grupe pacijenata sa NLFE i SFE (15 vs. 18 godina,  $p = 0,066$ ). U celokupnoj grupi obolelih od NSFEE (9 vs. 14 godina,  $p < 0,001$ ), kao i u grupi NLFE (12 vs. 17 godina,  $p < 0,001$ ) i KPE (3 vs. 12,5 godina,  $p < 0,001$ ) su pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom imali značajno raniji početak bolesti, dok u grupi obolelih sa HS (6 vs. 13 godina,  $p = 0,086$ ) kao i SFE (17 vs. 18 godina,  $p = 0,483$ ) ova razlika nije bila statistički značajna. Šta više, početak bolesti kod pacijenata sa NSFEE i pozitivnom porodičnom anamnezom je bio najkasnije do 39. godine života (NLFE do 34, HS do 39, KPE do 39, godine), dok je kod pacijenata sa SFE bio do 44. godine. U grupi pacijenata sa negativnom porodičnom anamnezom, pacijenti sa NSFEE, NLFE i SFE su oboljevali do 79. godine, dok su pacijenti sa HS oboleli do 74, a oboleli od KPE do 64. godine.

Sekvenciranjem sedam selektovanih gena registrovano je osam VOI kod ukupno 10 (10,4%) pacijenata od kojih su sedam nove koje nisu prethodno registrovane u ClinVar ili GnomAD. Pet varijanti je klasifikovano kao verovatno patogeno, dve kao VUS i jedna kao verovatno benigna. Ukupni dijagnostički prinos ovako dizajniranog panela je iznosio 7,3%, dok je sekvenciranje gena definisanih u Epi4K studiji imalo dijagnostički prinos od 6,2%, a sekvenciranje gena GATOR1 kompleksa 3,1%. Pacijenti koji su bili nosioci varijanti se nisu značajno razlikovali po starosti, polu, starosti na početku i trajanju bolesti, broju isprobanih AEL, učestalosti febrilnih napada, povreda glave, pojavi napada sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, klastera napada ili epileptičkog statusa u odnosu na pacijente koji nisu bili nosioci varijanti. Nosioci VOI su značajno češće imali ETLE u odnosu na one koji nisu bili nosioci i kada su analizirani svi geni (60,0% vs. 18,6%,  $p = 0,011$ ), i kada su analizirani samo geni Epi4K grupe (62,5% vs. 19,3%,  $p = 0,020$ ) ili GATOR1 kompleksa (75,0% vs. 20,7%,  $p = 0,020$ ), ali nisu nađene druge statistički značajne kliničke niti radiološke razlike. Dve nove verovatno patogene varijante (jedna frameshift i jedna SNV kanoničnog mesta splajsovanja) su definisane u *DEPDC5* genu kod dve (2,2%) pacijentkinje od kojih je jedna alelska sa ranije opisanom *frameshift* varijantom i označava moguću mutacionu vruću tačku koja zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena *frameshift* varijanta je definisana u *NPRL2* genu kod jedne (1,1%) pacijentkinje sa uspešno operativno lečenom TLE udruženom sa HS, što predstavlja prvi opisan slučaj varijante u *NPRL2* genu povezane sa HS. Jedna nova verovatno patogena *frameshift* varijanta je definisana u *SCN1A* genu kod dva (2,2%) pacijenta koji nisu u srodstvu koja sugerise postojanje moguće mutacione vruće tačke ili founder efekta u našoj populaciji, što zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena *frameshift* varijanta je definisana u *PCDH19* genu u mozaičnoj formi kod dva (2,2%) muška pacijenta koja sugerise postojanje moguće



mutacione vruće tačke koja zahteva dalje ispitivanje. Dve nove VUS su registrovane kod dva (2,2%) pacijenta, jedna u *NPRL3* i druga u *GRIN2A* genu, koje zahtevaju dalje ispitivanje. Jedna prethodno opisana verovatno benigna varijanta je registrovana u *GRIN2A* genu kod jednog (1,1%) pacijenta. Nije registrovana nijedna VOI u *LGII* genu.

**Zaključci:** Tri četvrtine obolelih od FE su imali NSFE. Pacijenti sa NSFE su češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodne poremećaje, nezavisno od stepena srodstva najbližeg obolelog srodnika ili dijagnoze postavljene kod srodnika, kao i raniji početak bolesti, izuzev u grupi obolelih od NLFE, što posredno sugerise značajan uticaj genetskih faktora u nastanku bolesti kod obolelih od NSFE.

Ukupan dijagnostički prinos sekvenciranja svih sedam gena među pacijentima sa NSFE ili HS i KPE sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje je bio 7,3%, dok je prinos sekvenciranja gena definisanih u Epi4K studiji bio 6,2%, a sekvenciranje gena GATOR1 kompleksa 3,1%. Nosioi VOI su značajno češće bolovali od ETLE u odnosu na pacijenta bez VOI, ali se nisu značajno razlikovali u drugim kliničkim ili radiološkim karakteristikama. Identifikovano je pet novih prethodno neopisanih patogenih varijanti (dve u *DEPDC5* genu, jedna u *NPRL3*, jedna u *SCN1A* i jedna u *PCDH19* genu), dok u *LGII* genu nije identifikovana nijedna VOI. U našoj studiji je pokazan visok dijagnostički prinos merljiv sa studijama u koje je uključen značajno veći broj gena što potvrđuje opravdanost genetskog testiranja u adekvatno selektovanoj adultnoj populaciji pacijenata primenom ove grupe gena.

**Ključne reči:** fokalna epilepsija, etiologija epilepsije, nestečena fokalna epilepsija, genetika epilepsije, fokalna kortikalna displazija, hipokampalna skleroza, neleziona fokalna epilepsija, GATOR1, *DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *PCDH19*, *GRIN2A*, *LGII*

**Naučna oblast:** medicina

**Uža naučna oblast:** neurologija

**UDK broj:**



## Abstract

**Introduction:** Focal epilepsy (FE) is the most common type of epilepsy associated with resistance to antiepileptic drugs (AEDs) and persistent seizures. The most significant predictor of disease course, response to AEDs, and the outcome of surgical treatment is the etiology of the disease. The modern concept of etiological categorization has moved away from long-standing dogma based on rigid and mutually exclusive categories, allowing for overlap between multiple etiological categories defined by different diagnostic modalities. Brain magnetic resonance imaging (MRI) has been a key step in understanding the structural etiology of FE, distinguishing patients with probably acquired FE (AFE) and those with non-acquired FE (NAFE), where genetic determinants play a significant role in disease onset. Similarly, next-generation sequencing (NGS), by making molecular-genetic testing accessible and widely available, has enabled the accumulation of knowledge about the contribution of gene variants to the onset of FE, and thus the complex interaction of genetic and structural factors in the development of FE. In this sense, understanding the prevalence of different structural etiologies and their relationship with familial occurrence of the disease, as well as the time of epilepsy onset, two well established predictors of genetic disease, and the accumulation of knowledge about the spectrum of gene variants in the onset of FE and their clinical and radiological correlations, are crucial for a better understanding of the etiopathogenesis of FE, and thus its prognosis and treatment outcomes.

**Objectives:** The objectives of this study were (1) to determine the frequency of NAFE in a group of patients examined at a tertiary epilepsy center; (2) to determine the frequency of a positive family history of epilepsy and related disorders among patients with NAFE and AFE; (3) to determine the clinical and radiological characteristics of patients with NAFE and AFE; (4) to determine the clinical and radiological characteristics of patients with NAFE with and without a positive family history; (5) to determine the frequency of ultra-rare variants in the most common genes associated with FE in the examined group of patients with NAFE; (6) to determine the clinical, radiological, and electroencephalographic characteristics of variant carriers in selected genes.

**Methods:** All patients examined at the Epilepsy Center, Clinic of Neurology, University Clinical Center of Serbia between April 1, 2008, and November 1, 2019, were analyzed. A retrospective cross-sectional study with an embedded molecular-genetic study was conducted. The diagnostic evaluation included multi-day video-electroencephalographic monitoring and 1.5T brain MRI. Structural etiological diagnosis was based on MRI findings, while lobar diagnosis was based on the principle of concordant evaluation results. Patients with non-lesional focal epilepsy (NLFE), as well as those with FE associated with hippocampal sclerosis (HS) or congenital or perinatal etiology (CPE), were classified as having NAFE, while patients with epilepsy associated with tumors, gliosis, autoimmune diseases, or vascular malformations were classified as having AFE. The presence of a positive family history of epilepsy and related disorders in relatives up to the third degree, age at epilepsy onset, and lobar diagnosis in patients with NAFE and AFE were compared, as were NAFE patients with and without a family history. We also conducted a nested molecular genetic analysis utilizing the Illumina NGS platform with a custom-designed panel consisting of five genes defined as significant in the occurrence of Focal Epilepsies (FE) in the Epi4K study (*DEPDC5*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A*, and *PCDH19*), as well as the remaining two genes that, along with *DEPDC5*, constitute the GATOR1 complex genes (*NPRL2* and *NPRL3*). This study included 96 patients with clinical suspicion of FE associated with selected genes, which included patients with non-lesional FE (NLFE) or those with NAFE associated with hippocampal sclerosis (HS) or focal cortical dysplasia (FCD) and a positive family history of epilepsy and related disorders. Variants of interest (VOI) were identified using the Broad Institute pipeline. The classification of the clinical significance of VOI was done according to the criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. The clinical and radiological characteristics of variant carriers were compared with patients who were not carriers of variants.

**Results:** Among 1345 consecutive patients evaluated at the Epilepsy Center, 965 patients with a diagnosis of FE were identified, of whom approximately three-quarters had NAFE (74.2%). Patients with NAFE had a longer duration of illness (17 vs. 11 years,  $p < 0.001$ ) and more frequently had temporal lobe epilepsy (TLE) compared to patients with AFE (42.6% vs. 34.0%,  $p < 0.001$ ). Patients with NAFE significantly more often had a positive family history compared to those with AFE when considering all diagnoses (19.1% vs. 9.2%,  $p < 0.001$ ), as well as when considering only epilepsy (16.1% vs. 8.4%,  $p < 0.003$ ) among relatives. Patients with NLFE (23.7% vs. 9.2%,  $p < 0.001$ ) and HS (15.5% vs. 9.2%,  $p = 0.028$ ) significantly more often had a positive family history of epilepsy and related disorders compared to those with AFE. Patients with AFE had a maximum of two affected relatives (three patients), while those with NLFE had a maximum of seven affected relatives (two patients), those with HS (two patients), and CPE (one patient) had a maximum of four affected relatives. Patients with NAFE significantly more often had TLE (63.9% vs. 47.5%,  $p < 0.001$ ) and less frequently had extratemporal lobe epilepsy (ETLE, 36.1% vs. 52.5%,  $p < 0.001$ ) compared to patients with AFE. Patients with NLFE more often had TLE (50.7%), while frontal lobe epilepsy (FLE) and posterior quadrant epilepsy (PQE) were more common in patients with AFE (26.8% and 23.5%,  $p < 0.001$ ). No statistically significant difference in the distribution of lobar diagnoses was found in patients with a positive and negative family history of epilepsy and related disorders. The overall group of patients with NAFE had a significantly earlier onset of disease compared to patients with AFE (13 vs. 18 years,  $p < 0.001$ ). Patients with HS (12 vs. 18 years,  $p < 0.001$ ) and CPE (11 vs. 18 years,  $p < 0.001$ ) had a significantly earlier onset of disease compared to patients with AFE, while this difference was not statistically significant between the group of patients with NLFE and AFE (15 vs. 18 years,  $p = 0.066$ ). In the overall group of patients with NAFE (9 vs. 14 years,  $p < 0.001$ ), as well as in the NLFE group (12 vs. 17 years,  $p < 0.001$ ) and CPE group (3 vs. 12.5 years,  $p < 0.001$ ), patients with a positive family history had a significantly earlier onset of disease, while in the HS group (6 vs. 13 years,  $p = 0.086$ ) and AFE group (17 vs. 18 years,  $p = 0.483$ ), this difference was not statistically significant. Furthermore, the onset of disease in all patients with NAFE and a positive family history was by the age of 39 (NLFE by 34, HS by 39, CPE by 39 years), while in patients with AFE, it was by the age of 44. In the group of patients with a negative family history, patients with NAFE, NLFE, and AFE had disease onset by age 79, while patients with HS had it until the age of 74, and those with CPE until the age of 64.

Sequencing of seven selected genes identified eight VOIs in a total of 10 (10.4%) patients, seven of which were novel and not previously recorded in ClinVar or GnomAD. Five variants were classified as likely pathogenic, two as variants of uncertain significance (VUS), and one as likely benign. The overall diagnostic yield of this designed panel was 7.3%, while the sequencing of genes defined in the Epi4K study had a diagnostic yield of 6.2%, and sequencing of genes of the GATOR1 complex had a yield of 3.1%. Variant carriers did not significantly differ in age, gender, age at onset, disease duration, the number of tested AEDs, frequency of febrile seizures, head injuries, occurrence of focal to bilateral tonic-clonic seizures, seizure clusters, or epileptic status compared to patients who were not variant carriers. Variant carriers significantly more often had ETLE compared to non-carriers, whether analyzing all genes (60.0% vs. 18.6%,  $p = 0.011$ ), or only genes of the Epi4K group (62.5% vs. 19.3%,  $p = 0.020$ ), or GATOR1 complex genes (75.0% vs. 20.7%,  $p = 0.020$ ). Two new likely pathogenic variants (one frameshift and one canonical splice site single nucleotide variant) were identified in *DEPDC5* in two (2.2%) patients, one of which was allelic with a previously described frameshift variant, indicating a possible mutational hot spot requiring further investigation. One new likely pathogenic frameshift variant was identified in the *NPRL2* gene in one (1.1%) patient with successfully surgically treated TLE associated with HS, representing the first reported case of a variant in the *NPRL2* gene associated with HS. One new likely pathogenic frameshift variant was identified in the *SCN1A* gene in two (2.2%) unrelated patients, suggesting the presence of a possible mutational hot spot or founder effect in our population, requiring further investigation. One new likely pathogenic frameshift variant in mosaic form was identified in the *PCDH19* gene in two (2.2%) male patients, also suggesting the presence of a possible mutational hot spot requiring further investigation.

Two new VUS were recorded in two (2.2%) patients, one in the *NPRL3* and the other in the *GRIN2A* gene, requiring further investigation. One previously described likely benign variant was recorded in the *GRIN2A* gene in one (1.1%) patient. No VOIs were identified in the *LGII* gene.

**Conclusion:** Three-quarters of FE patients had NAFE. Patients with NAFE more often had a positive family history of epilepsy and related disorders, regardless of the degree of relationship with the closest affected relative or the diagnosis established in relatives, as well as an earlier onset of disease, except in the group of patients with NLFE, indirectly suggesting a significant influence of genetic factors in the onset of disease in patients with NAFE. The overall diagnostic yield of sequencing all seven genes among patients with NAFE or HS and CPE with a positive family history of epilepsy and related disorders was 7.3%, while the yield of sequencing genes defined in the Epi4K study was 6.2%, and sequencing of GATOR1 complex genes had a yield of 3.1%. Variant carriers more often had ETLE compared to patients without variants but did not significantly differ in other clinical or radiological characteristics. Five new previously undescribed pathogenic variants were identified (two in the *DEPDC5* gene, one in *NPRL3*, one in *SCN1A*, and one in the *PCDH19* gene), while no VOIs were identified in the *LGII* gene. Our study demonstrated a high diagnostic yield comparable to studies involving a significantly larger number of genes, confirming the justification of genetic testing in adequately selected adult patient populations using this gene group.

**Keywords:** focal epilepsy, epilepsy etiology, non-acquired focal epilepsy, epilepsy genetics, focal cortical dysplasia, hippocampal sclerosis, non-lesional focal epilepsy, GATOR1, *DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *PCDH19*, *GRIN2A*, *LGII*

**Scientific field:** medicine

**Narrow field of expertise:** neurology

**UDK number:**



# Sadržaj

1	Uvod.....	1
1.1	Definicija fokalne epilepsije .....	1
1.2	Epidemiologija fokalne epilepsije.....	3
1.2.1	Incidencija fokalne epilepsije.....	3
1.2.2	Prevalencija fokalne epilepsije.....	4
1.2.3	Prirodni tok lečene fokalne epilepsije .....	5
1.2.4	Mortalitet u fokalnoj epilepsiji.....	7
1.2.5	Opterećenje fokalnom epilepsijom .....	8
1.3	Savremeni koncepti etiologije fokalne epilepsije .....	9
1.3.1	Istorijska evolucija etiološke paradigme epilepsije .....	9
1.3.2	Strukturna etiologija fokalne epilepsije – epileptogena lezija .....	14
1.3.2.1	Neleziona fokalna epilepsija (NLFE) – dijagnostički i terapijski izazov .....	17
1.3.2.2	Prognostički značaj lezije na magnetnoj rezonanciji mozga .....	18
1.3.3	Nove metode u molekularnoj genetici – prozor u genetsku osnovu epilepsija..	20
1.4	Mehanizmi epileptogeneze u genski uslovljenim epilepsijama.....	22
1.4.1	Funkcionalni efekti genskih varijanti.....	24
1.4.1.1	Klasifikacija funkcionalnih tipova genskih varijanti .....	24
1.4.1.2	Metode ispitivanja funkcionalnih konsekvenci genskih varijanti .....	25
1.4.1.2.1	<i>In vitro</i> sistemi .....	25
1.4.1.2.2	<i>In vivo</i> i <i>ex vivo</i> sistemi .....	25
1.4.2	Epileptogeneza usled disfunkcije jonskih kanala.....	26
1.4.2.1	Struktura jonskih kanala i regulacija ekscitabilnosti neuronalne membrane .....	26
1.4.2.2	Epileptogeneza u natrijumskim kanalopatijama .....	29
1.4.2.2.1	Epileptogeneza kod varijanti u <i>SCN1A</i> genu .....	29

1.4.2.2.2	Epileptogeneza kod varijanti u <i>SCN2A</i> genu .....	30
1.4.2.2.3	Epileptogeneza kod varijanti u <i>SCN1B</i> genu .....	31
1.4.2.3	Epileptogeneza u kalijumskim kanalopatijama.....	31
1.4.2.3.1	Epileptogeneza kod varijanti u <i>KCNA1</i> i <i>KCNA2</i> genima.....	32
1.4.2.3.2	Epileptogeneza kod varijanti u <i>KCNQ2</i> i <i>KCNQ3</i> genima.....	32
1.4.2.3.3	Epileptogeneza kod varijanti u <i>KCNT1</i> genu.....	33
1.4.2.4	Epileptogeneza kod varijanti u genima za nikotinski receptor .....	33
1.4.2.5	Epileptogeneza kod varijanti u genima za GABA <sub>A</sub> receptor .....	34
1.4.2.6	Epileptogeneza kod varijanti u genima za NMDA receptor .....	34
1.4.3	Epilepsije usled varijanti u genima mTOR signalnog puta.....	35
1.4.3.1	Komponente i signalna kaskada mTOR signalnog puta .....	35
1.4.3.2	Hiperaktivnost mTOR signalnog puta u mTORopatijama .....	37
1.4.3.2.1	<i>In vitro</i> funkcionalni modeli mTORopatija .....	38
1.4.3.2.2	Animalni modeli mTORopatija .....	38
1.4.3.2.3	<i>Ex vivo</i> materijal resektovanog moždanog tkiva pacijenata .....	39
1.5	Monogenske fokalne epilepsije.....	39
1.5.1	Samooograničene neonatalne i infantilne fokalne epilepsije.....	42
1.5.2	Autozomno dominantna hipermotorna epilepsija u spavanju (ADSHE).....	43
1.5.3	Familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima (FFEVF) .....	45
1.5.4	Autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima (ADEAF).....	47
1.5.5	Familijarna meziotemporalna epilepsija (FMTLE) .....	48
1.5.6	Autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora (ADRESD) .....	49
1.6	Genetska arhitektonika fokalne epilepsije .....	50
1.6.1	Osnovi genetske epidemiologije epilepsije.....	50
1.6.2	Naslednost fokalne epilepsije.....	51
1.6.2.1	Udeo genetskih determinanti u oboljevanju od epilepsije .....	52
1.6.2.2	Rizik od oboljevanja kod srodnika.....	53



1.6.3	Spektar genetskih varijanti u fokalnoj epilepsiji.....	55
1.6.3.1	Podela na osnovu veličine genetskih varijanti .....	55
1.6.3.1.1	Velike hromozomske aberacije .....	56
1.6.3.1.2	Varijante broja ponovaka (CNV).....	57
1.6.3.1.2.1	Rekurentne varijante broja ponovaka .....	57
1.6.3.1.2.2	Nerekurentne varijante broja ponovaka .....	58
1.6.3.1.3	Indeli i varijante pojedinačnih nukletida (SNV).....	58
1.6.3.2	Veličina efekta .....	59
1.6.3.3	Učestalost genskih varijanti .....	60
1.6.3.3.1	Često oboljenje – česta varijanta.....	61
1.6.3.3.2	Često oboljenje – retke varijante.....	62
1.6.3.3.2.1	Studija Epi4K konzorcijuma i Epilepsija genom/fenom projekta ...	63
1.6.3.3.2.2	Studije Epi25 kolaboracije .....	64
1.6.3.3.3	Retke i česte varijante .....	65
1.6.3.4	Obrasci nasleđivanja i nenasledni genetski mehanizmi.....	65
1.6.3.4.1	<i>De novo</i> varijante u razvojnim i epileptičkim encefalopatijama.....	65
1.6.3.4.2	Somatski mozaicizam .....	65
1.6.3.5	Genotipsko-fenotipska heterogenost epilepsija .....	66
1.6.4	Kliničke implikacije razumevanja genetike epilepsija.....	67
1.6.4.1	Prinos genetskog testiranja.....	67
1.6.4.2	Prognostički značaj genetske dijagnoze.....	68
1.6.4.3	Psihološki značaj dijagnoze za pacijente i porodice .....	69
1.6.4.4	Genetsko savetovanje .....	69
1.6.4.4.1	Varijante nepoznatog značaja .....	70
1.6.4.4.2	Rizik od rekurencije .....	70
1.6.4.4.3	Neočekivani nalazi.....	70
1.6.4.5	Precizna medicina u epilepsijama .....	71
1.6.4.5.1	Ciljana mehanizmom vođena terapija.....	71

1.6.4.5.2	Procena rizika od recidiva napada .....	73
1.6.4.5.3	Selekcija pacijenata za hirurško lečenje epilepsije .....	74
1.7	Rezime .....	75
2	Ciljevi istraživanja .....	77
3	Materijali i metode .....	79
3.1	Pacijenti.....	79
3.2	Dijagnostičke procedure .....	81
3.2.1	Dugotrajni video-EEG telemetrijski monitoring.....	81
3.2.1.1	Redukcija ili obustava antiepileptičkih lekova .....	82
3.2.1.2	Kliničke karakteristike napada.....	83
3.2.1.3	Interiktalni i iktalni EEG.....	83
3.2.2	Magnetna rezonanca mozga.....	83
3.2.3	Funkcionalne tehnike nuklearne medicine.....	85
3.3	Ugnježdena molekularno-genetička studija .....	85
3.3.1	Selekcija pacijenata za ugnježdenu genetsku studiju.....	85
3.3.2	Molekularno-genetička dijagnostika.....	88
3.3.2.1	Izolacija genomske DNK iz periferne krvi .....	88
3.3.2.2	Određivanje koncentracije i kvaliteta genomske DNK.....	88
3.3.2.3	Sekvenciranje nove generacije panelom kreiranim po porudžbini .....	89
3.3.2.3.1	Priprema uzoraka i formiranje DNK biblioteke.....	89
3.3.2.3.1.1	Određivanje prosečne dužine fragmenta.....	90
3.3.2.3.2	Reakcija sekvenciranja nove generacije .....	91
3.3.2.3.3	Analiza rezultata sekvenciranja .....	91
3.3.2.3.3.1	Predprocesiranje podataka .....	91
3.3.2.3.3.2	Detekcija varijanti .....	91
3.3.2.3.3.3	Dodatno filtriranje varijanti .....	92
3.3.2.3.3.4	Klasifikacija varijanti od interesa .....	93
3.4	Etički aspekti istraživanja .....	95

3.5	Statistička analiza.....	95
4	Rezultati .....	96
4.1	Demografske, kliničke i radiološke karakteristike ispitivane grupe pacijenata .....	96
4.1.1	Populacija pacijenti Centra za epilepsije i njihovi epileptički sindromi .....	96
4.1.2	Demografske karakteristike ispitivane grupe pacijenata sa fokalnom epilepsijom .....	96
4.1.3	Lobarni sindromi u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom .....	99
4.1.4	Radiološki definisana strukturna etiologije fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata .....	99
4.1.5	Distribucija strukturne etiologije fokalne epilepsije kod pacijenata različite lobarne dijagnoze fokalne epilepsije .....	100
4.1.6	Porodična anamneza na epilepsiju i srodne poremećaje u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom .....	101
4.2	Kliničke i radiološke karakteristike pacijenata sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom .....	104
4.2.1	Učestalost nestečene i stečene fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata... ..	104
4.2.2	Distribucija lobarne dijagnoze među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom.....	107
4.2.3	Distribucija porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom.....	107
4.2.3.1	Distribucija lobarnih sindroma među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom u zavisnosti od porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje .....	109
4.2.4	Starost na početku epilepsije kod pacijenta različite strukturne etiologije bolesti u ispitivanoj grupi pacijenata .....	110
4.3	Ugnježdena molekularno-genetička studija .....	113
4.3.1	Demografske i kliničke karakteristike kohorte pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji .....	113
4.3.1.1	Demografske i kliničke karakteristike kohorte pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji .....	113
4.3.1.2	Distribucija lobarnih sindroma u grupi pacijenata pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji .....	113
4.3.1.3	Distribucija porodične anamneze na epilepsiju, epileptičke napade i febrilne napade kod pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji .....	114

4.3.1.4 Radiološki utvrđena strukturna etiologija epilepsije kod pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji.....	115
4.3.2 Varijante od interesa u ispitivanim genima.....	116
4.3.2.1 Subanaliza prinosa sekvenciranja i karakteristika nosilaca varijanti od interesa u genima definisanim u EPI4K studiji .....	120
4.3.2.2 Varijante od interesa u genima GATOR1 kompleksa .....	120
4.3.2.2.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u genima GATOR1 kompleksa .....	121
4.3.2.2.1.1 Varijanta <i>DEPDC5</i> c.422_432del, p.Ala141ValfsTer3.....	122
4.3.2.2.1.2 Varijanta <i>DEPDC5</i> c.1287+2T>G.....	124
4.3.2.2.1.3 Varijanta <i>NPRL2</i> c.197_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45.....	125
4.3.2.2.1.4 Varijanta <i>NPRL3</i> c.1495C>T, p.Leu499Phe.....	127
4.3.2.3 Varijante od interesa u <i>SCN1A</i> genu.....	130
4.3.2.3.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u <i>SCN1A</i> genu.....	130
4.3.2.3.1.1 Varijanta <i>SCN1A</i> c.2123_2154dup, p.Ile719ProfsTer7 .....	130
4.3.2.4 Varijante od interesa u <i>GRIN2A</i> genu.....	133
4.3.2.4.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u <i>GRIN2A</i> genu.....	134
4.3.2.4.1.1 Varijanta <i>GRIN2A</i> c.3578T>G, p.Leu1193Trp.....	134
4.3.2.4.1.2 Varijanta <i>GRIN2A</i> c.1586T>C, p.Val529Ala .....	135
4.3.2.5 Varijante od interesa u <i>PCDH19</i> genu.....	137
4.3.2.5.1 Karakteristike nosilaca varijanti u <i>PCDH19</i> genu.....	137
4.3.2.5.1.1 Varijanta <i>PCDH19</i> c.2417_2433dup, p.Asn812ProfsTer2.....	137
5 Diskusija.....	141
6 Zaključci.....	187
7 Literatura.....	189

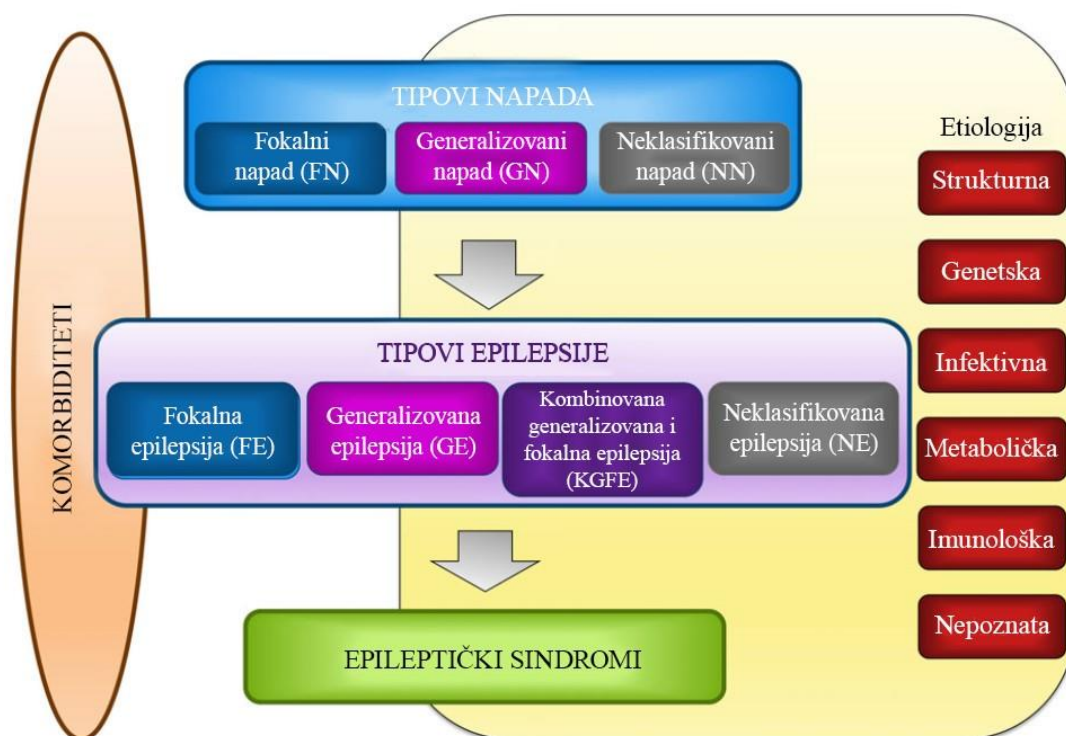




# 1 Uvod

## 1.1 Definicija fokalne epilepsije

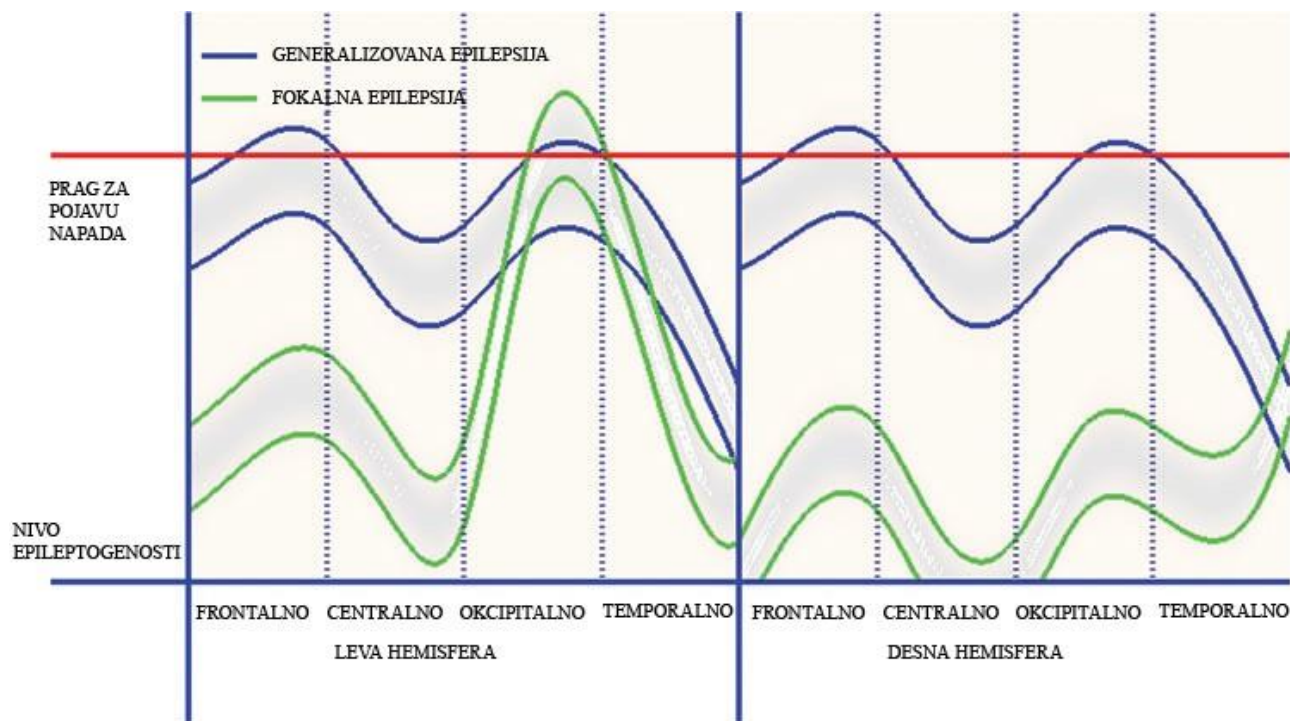
Epilepsija je moždano oboljenje koju karakteriše dugoročna predispozicija za pojavu epileptičkih napada, kao i neurobiološke, kognitivne, psihološke i socijalne posledice ovakvog stanja. Postavljanje dijagnoze epilepsije zahteva pojavu barem jednog epileptičkog napada koji podrazumeva prolaznu pojavu znakova ili simptoma usled preterane, abnormalne i sinhronne neuronalne aktivnosti u mozgu (Fisher et al., 2014, 2005).



Slika 1 Moderan koncept dijagnoze epilepsije, adaptirano iz Scheffer et. al. 2017

Kako se radi o heterogenoj grupi oboljenja, dijagnostički postupak, sem razlikovanja epilepsije od drugih bolesti čija su osnovna manifestacija repetitivni paroksizmalni događaji, podrazumeva i što bližu definiciju same bolesti. U ovom procesu okosnicu dijagnoze čini razlikovanje fokalne (FE) od generalizovane epilepsije (GE). Dihotomija FE nasuprot GE je centralna tema epileptoloških razmatranja još od vremena Hughlings Jackson-a (York and Steinberg, 2009), iako je još tada bilo jasno da se neki entiteti ne mogu strogo klasifikovati u jednu od ove dve kategorije. Ipak, kategorizacija pacijenata u jednu od ova dva ekstrema ostaje nepromenjena nove klasifikacije napada i epilepsija Međunarodne lige za borbu protiv epilepsije (eng. *International League Against Epilepsy*, ILAE) iz 2017. godine (Scheffer et al., 2017). Moderan koncept dijagnoze epilepsije, baziran na ovoj klasifikaciji, počinje sa tri koraka (Slika 1). Prvi je razlikovanje tipa napada, što počiva na prepoznavanju da napad počinje u neuronalnoj mreži ograničenoj na jednu hemisferu kod fokalnih napada (FN) ili u vidu brzog simultanog širenja epileptičke aktivnosti kroz neuronalnu mrežu koja obuhvata obe velikomoždane hemisfere kod generalizovanih napada (GN). Napadi za koje nema odgovarajućih podataka da bi bili pravilno klasifikovani je određen termin neklasifikovani napadi (NN) (Fisher et al., 2017). Pravilna klasifikacija svih napada prisutnih kod pacijenta omogućava definisanje tipa epilepsije – generalizovane, fokalne ili kombinovane generalizovane i fokalne

epilepsije (KGFE) koja ima elemente oba ova entiteta. Ovom tipu epilepsije, prema sadašnjem shvatanju pripadaju neki već opisani i poznati entiteti koji su do sada svrstavani među GE, kao što je Lennox-Gastaut sindrom. Za obolele kod kojih nije moguće definisati tip epilepsije je zadržana kategorija neklasifikovane epilepsije (NE).



Slika 2 Grafički prikaz nivoa epileptogenosti kod pacijenta sa levom okcipitalnom fokalnom epilepsijom i pacijenta sa generalizovanom epilepsijom, adaptirano iz Lüders et al., 2009

Razdvajanje epilepsija na FE i GE počiva na patofiziološkoj premisi da u osnovi GE stoji visoka *bazična epileptogenost* koja podjednako zahvata sve delove mozga i koja je verovatno genetski determinisana, dok kod FE postoji relativno niska bazična epileptogenost čitavog mozga uz prisutan *kauzalni faktor* (najčešće leziju), koji selektivno povećava epileptogenost ograničenog moždanog regiona (Slika 2). Međutim, realnost je da između ova dva ekstrema postoji kontinuum u kome su moguće sve gradacije. Ipak, većina obolelih se po svojim karakteristikama može grupisati u blizini jedne od ove dve krajnosti (Lüders et al., 2009).

FE karakteriše pojava FN koji, kao što je pomenuto, nastaju u okviru mreže ograničene na jednu hemisferu. Pod ovim terminom se podrazumeva epilepsija sa samo jedim fokusom, kao i multifokalna epilepsija ili čak epilepsija čiji fokus obuhvata čitavu hemisferu. Iako FN imaju fokalni početak, oni mogu evoluirati u bilateralne toničko-kloničke napade koji se tokom kasnije evolucije ni po čemu ne mogu razlikovati od GN. Nasuprot tome, mesto početka GN može biti kortikalno, subkortikalno ili obuhvatati i kortikalne i subkortikalne strukture, ali se uvek karakteriše već pomenutim brzim simultanim zahvatanjem obe velikomoždane hemisfere. Elektroencefalografsko (EEG) obeležje FE su fokalne epileptiformne promene, a pomoću neurovizuelizacionih metoda je kod najvećeg broja pacijenata moguće odrediti i leziju kojom se bolest može i etiološki definisati (Scheffer et al., 2017).

Sledeći korak u postavljanju dijagnoze podrazumeva analizu vremena početka bolesti, tipova napada, dinamike njihove pojave, odgovora na terapiju i drugih kliničkih i parakliničkih elemenata i definisanje *epileptičkog sindroma* u okviru odgovarajućeg tipa epilepsije. Dijagnoza epilepsije je

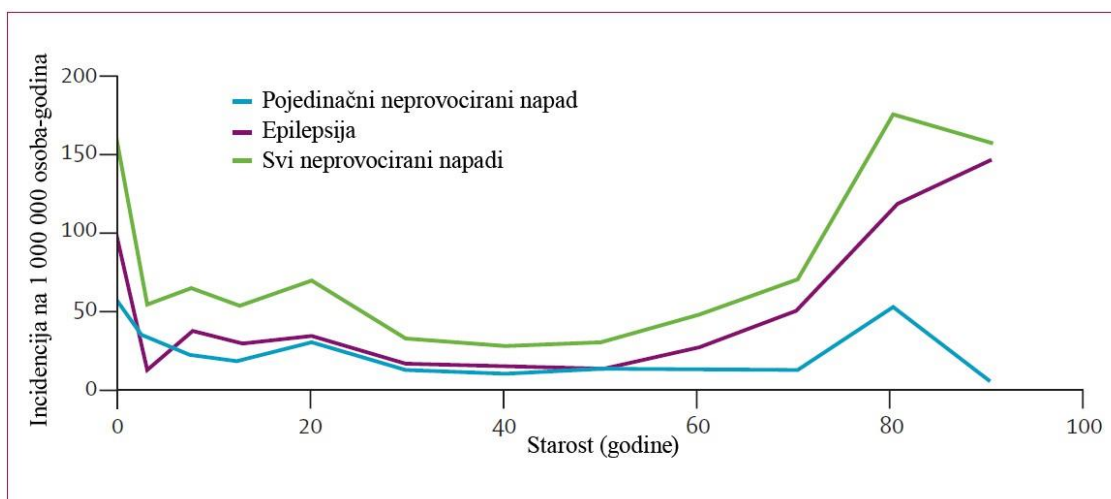


potpuna po identifikaciji *pratećih komorbiditeta*, kao što su npr. udruženi kognitivni ili psihijatrijski poremećaji, i određivanju *etiologije bolesti* (Falco-Walter et al., 2018).

## 1.2 Epidemiologija fokalne epilepsije

### 1.2.1 Incidencija fokalne epilepsije

Incidencija epilepsije u razvijenim zemljama Evrope i Severne Amerike se kreće u rasponu od 30 do 70 novoobolelih na 100 000 stanovnika godišnje (Annegers et al., 1999; Christensen et al., 2007; Forsgren et al., 1996; Hauser et al., 1993; Olafsson et al., 2005). Rezultati velike meta analize pokazuju da ona prosečno iznosi 43,4 na 100 000 godišnje, dok je u zemljama u razvoju ona nešto veća (68,7 na 100 000 godišnje) (Kotsopoulos et al., 2002). Ovo odstupanje je najverovatnije posledica slabijih sanitarnih uslova zbog kojih su infektivne bolesti česti uzroci epilepsije u Južnoj Americi i Africi, mada se ne može isključiti ni uticaj ograničenog pristupa lečenju (Neligan et al., 2012). Kumulativna incidencija epilepsije iznosi oko 1% do 15, oko 2% do 55, oko 3,5% do 75 i oko 4,5% do 85. godine života, što znači da će približno svaka 25. osoba oboleti od epilepsije u nekom trenutku u svom životu (Forsgren et al., 1996; Hauser et al., 1993; Olafsson et al., 2005). Starosna distribucija incidencije se može predstaviti bimodalnom krivom (Slika 3), što se stabilno održava u svim epidemiološkim studijama kako u razvijenom svetu, tako i zemljama u razvoju od sredine XX veka do danas. Najveća incidencija epilepsije je pokazana tokom prve godine života (130,2 na 100 000 godišnje) i kod starijih od 65 godina (110,5 na 100 000 godišnje) (Olafsson et al., 2005).



Slika 3 Starosna distribucija incidencije epilepsije, prvog neprovocirang napada i svih neprovociranih napada na Islandu od 1995. do 1999. godine, adaptirano iz Olafsson et al., 2005

Poslednjih decenija zapaženo je da incidencija u dečjoj populaciji pada dok u starijoj populaciji raste, verovatno uslovljena povećanim preživljavanjem bolesnika sa moždanim udarom kao obolelih od tumora mozga, koji su najčešći uzrok epilepsije u ovoj populaciji. Kao posledicu ovog trenda u ročesterskom registru se održava stabilna ukupna incidencija epilepsije tokom 50 godina uz pad incidencije kod mlađih od 10 godina od čak 40%, dok je u starijoj populaciji gotovo udvostručena u periodu od 1967. i 1984. godine (Hauser et al., 1993; Hauser and Kurland, 1975). Naspram tome, u finskom registru je zabeležen ukupan pad incidencije sa 71,6 na 52,9 na 100 000 godišnje između 1986. i 2002. godine (Sillanpää et al., 2011).

U većini studija su FN bili nešto češći od GN i javljali se kod oko 55% pacijenata (Kotsopoulos et al., 2002). Najčešći tip napada je bio FN sa pomućenjem svesti (36%) (Hauser et al., 1993). U manjem broju studija je pokazana veća učestalost GN (Neligan et al., 2012). Međutim, meta analiza više studija sa evropskog kontinenta je našla da su kod čak 69% pacijenata čiji napadi su na

osnovu anamnestičkih podataka klasifikovani kao GN, nađene fokalne EEG promene koje sugerišu dijagnozu FE (Forsgren et al., 2005). Verovatno se u velikoj većini ovih slučajeva radilo o FN sa kasnijom evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade koji su pogrešno klasifikovani usled oskudnih podataka i neujednačene taksonomije.

Malo studija je izučavalo incidenciju FE kao samostalnog entiteta. U ročesterskom registru, incidencija FE je bila 34,9 na 100 000 godišnje. Incidencija tzv. *kriptogene FE*, pod kojom se podrazumeva bolest neutvrđene ali pretpostavljene strukturne ili metaboličke etiologije, je bila 17,5 na 100 000 godišnje. Ona je ujedno bila i najčešći tip epilepsije. Druga po učestalosti je bila tzv. *simptomatska FE* (17,2 na 100 000 godišnje), dok je incidencija *idiopatske FE* bila svega 0,2 na 100 000 stanovnika godišnje (Zarrelli et al., 1999). Islandska studija je našla daleko manju ukupnu incidenciju svih FE od 18,6 na 100 000 godišnje, iako je ona i dalje bila češća od GE. Bolest kod čak 40% registrovanih pacijenta klasifikovana kao NE. Incidencija kriptogene FE i simptomatske FE bila ujednačena (8,6 vs. 8,4 na 100 000 godišnje), dok je nađena proporcionalno veća incidencija idiopatske FE (1,6 na 100 000 godišnje) (Olafsson et al., 2005). U populacionoj studiji sprovedenoj na Martiniku u Francuskim Karibima, nađena je incidencija FN od 20,0 dok je incidencija GN bila 51,4 na 100 000 godišnje, verovatno jer su u zajedničku analizu bili uključeni i akutni simptomatski napadi koji su najčešće generalizovani. Ista studija je pokazala najveću incidenciju FN kod starijih od 85 godina (114,5 na 100 000 godišnje), a najmanju u uzrastu od 15 do 34 godine (8,7 na 100 000 godišnje) (Jallon et al., 1999).

### 1.2.2 Prevalencija fokalne epilepsije

Prevalencija aktivne epilepsije u zemljama Evrope i Severne Amerike se kreće između 4 i 10 na 1000 stanovnika (Sander, 2003). Sistemskim pregledom je pronađeno da prevalencija epilepsije u Evropi varira u rasponu od 3,3 do 7,8 na 1000, sa medijanom od 5,2 na 1000 (Forsgren et al., 2005). Najniža prevalencija zabeležena je na Siciliji (Rocca et al., 2001), verovatno usled prikrivanja dijagnoze. U ročesterskom registru je prevalencija u desetogodišnjim intervalima tokom 50 godina praćenja varirala između 2,7 i 6,8 na 1000 stanovnika (Hauser et al., 1991). Nasuprot tome, u zemljama Južne Amerike nađena je medijana doživotne prevalencije od 17,8 na 1000 stanovnika i medijana prevalencije aktivne epilepsije 12,4 na 1000 stanovnika (Burneo et al., 2005), dok je u Subsaharskoj Africi 15 na 1000 stanovnika, ali uz raspon veliki raspon vrednosti (5,2-70,0 na 1000) (Preux and Druet-Cabanac, 2005). Sistemski pregled podataka iz 12 azijskih zemalja našao je medijanu doživotne prevalencije epilepsije od 6 (1,5-14,0) na 1000 stanovnika (Mac et al., 2007) koja se ne razlikuje značajno u odnosu na rezultate iz evropskih i severnoameričkih zemalja. Meta analizom 20 studija prevalencije u Indiji su dobijeni slični rezultati (5,6 na 1000) (Sridharan and Murthy, 1999).

U zemljama u razvoju postoji velika razlika u prevalenciji epilepsije u urbanim i ruralnim sredinama. Tako je u ruralnom Ekvadoru prevalencija 15,4 nasuprot 9,1 na 1000 u urbanim naseljima (Placencia et al., 1992), dok je u ruralnom Pakistanu i Turskoj prevalencija čak duplo veća u odnosu na urbana naselja u istim zemljama (Aziz et al., 1997). Ovaj disparitet je barem delimično posledica etioloških razlika koje su ranije pominjane, ali su verovatno po sredi i socioekonomski faktori koji utiču na dostupnost zdravstvene zaštite. Naime, u velškoj studiji je pokazana snažna korelacija između epilepsije i socijalne deprivacije ( $r = 0,75$ ), dok je u islandskoj studiji pokazan povećan rizik od oboljevanja od epilepsije kod osoba sa niskim stepenom obrazovanja (OR 2,29, 95% CI 1,21-4,34) (Hesdorffer et al., 2005). Stoga je moguće da je razlika u prevalenciji između ruralnih i urbanih sredina barem delimično posledica socioekonomskog statusa. Međutim, priroda ove nije sasvim razjašnjena i iako je u islandskoj studiji sugerisano da je socijalna deprivacija faktor rizika za nastanak epilepsije, u drugim studijama je pokazano da se ona može javiti i kao njena posledica (Morgan et al., 2000).

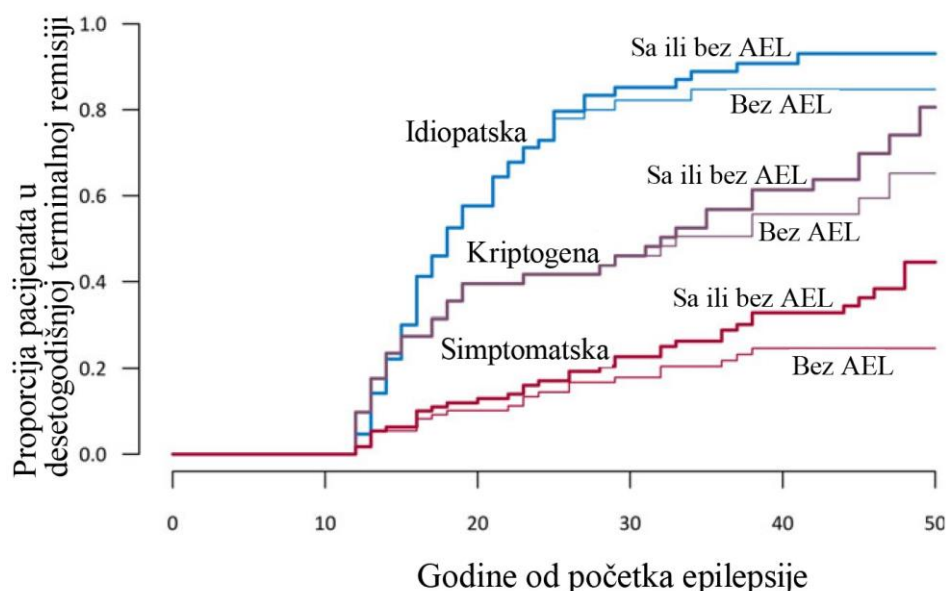
Prevalencija epilepsije opada sa starošću, što je pokazano i jednim sistematskim pregledom u kome je najviša prevalencija nađena u uzrasnoj grupi 0-19 godina (5,5 na 1000), dok je kod starijih od 60 godina ona bila 4,7 na 1000 (Forsgren et al., 2005). Ipak, važno je istaći da je su tri od devet studija uključenih u analizu pokazale veću prevalenciju kod starih (Luengo et al., 2001; Olafsson and Hauser, 1999; Rocca et al., 2001). Moguće je da su ovakvi kontradiktorni rezultati posledica metodoloških ograničenja tipičnih za studije prevalencije epilepsije u gerijatrijskoj populaciji. Stariji od 60 godina imaju povećan rizik za nastanak epilepsije zbog velike učestalosti bolesti koje donje mogu dovesti, ali je uprkos tome epilepsija često neprepoznata i pogrešno dijagnostikovana. Verovatno je razlog tome prisustvo višestrukih komorbiditeta koji se mogu manifestovati paroksizmalnim događajima ili gubicima svesti te su paroksizmalne epizode kod ovih bolesnika često pogrešno dijagnostikovane kao neepileptičke. Zbog toga je njena prevalencija u studijama verovatno potcenjena (Beghi and Giussani, 2018).

Većina studija je našla veću učestalost FE, od koje je obolelo od 33% do 65% svih osoba sa epilepsijom, u odnosu na GE (17-60% obolelih) i NE (2-8% obolelih) (Forsgren et al., 2005). Ovde je važno napomenuti da je većina velikih epidemioloških studija rađeno pre uvođenja kategorija KGFE. U ovu grupu bi smo danas svrstali bolesti koje su tradicionalno klasifikovane kao GE (kao što je npr. Lennox Gastaut sindrom), zbog čega je učestalost GE u ovim studijama verovatno precenjena. Disparitet između zastupljenosti FE i GE raste sa starošću, tako da je u roterdamskoj studiji nađeno da 73% obolelih od epilepsije starijih od 55 godina boluje od FE (de la Court et al., 1996). Sistemski pregled evropskih studija prevalencije je našao FN kod 55-83% obolelih, GN kod 6-32% i NN kod 8-20% odraslih (Forsgren et al., 2005). U pedijatrijskoj populaciji je pak nađeno 42-60% obolelih od FE, 30-58% od GE i 1-5% od NE, tako da je u ovoj populaciji veći udeo GE posledica manjeg udela pacijenata sa NE nego onih sa FE.

### *1.2.3 Prirodni tok lečene fokalne epilepsije*

Prema praktičnoj definiciji epilepsije ILAE iz 2014, dijagnoza epilepsije se može postaviti nakon dva spontana epileptička napada nastala sa vremenskim razmakom većim od 24 h ili nakon jednog spontanog epileptičkog napada, ukoliko postoji verovatnoća recidiva napada veća od 60%, kolika je nakon dva spontana napada (Fisher et al., 2014). Rizik od recidiva nakon prvog spontanog napada oko 30% i on najčešće nastupa tokom prve godine praćenja. Međutim postojanje epileptiformno izmenjenog EEG, epileptogene lezije na magnetnoj rezonanciji (MR) mozga ili kognitivnog poremećaja povećava ovaj rizik i opravdava postavljanje dijagnoze i uvođenje terapije već nakon prvog napada (Hauser et al., 1998).

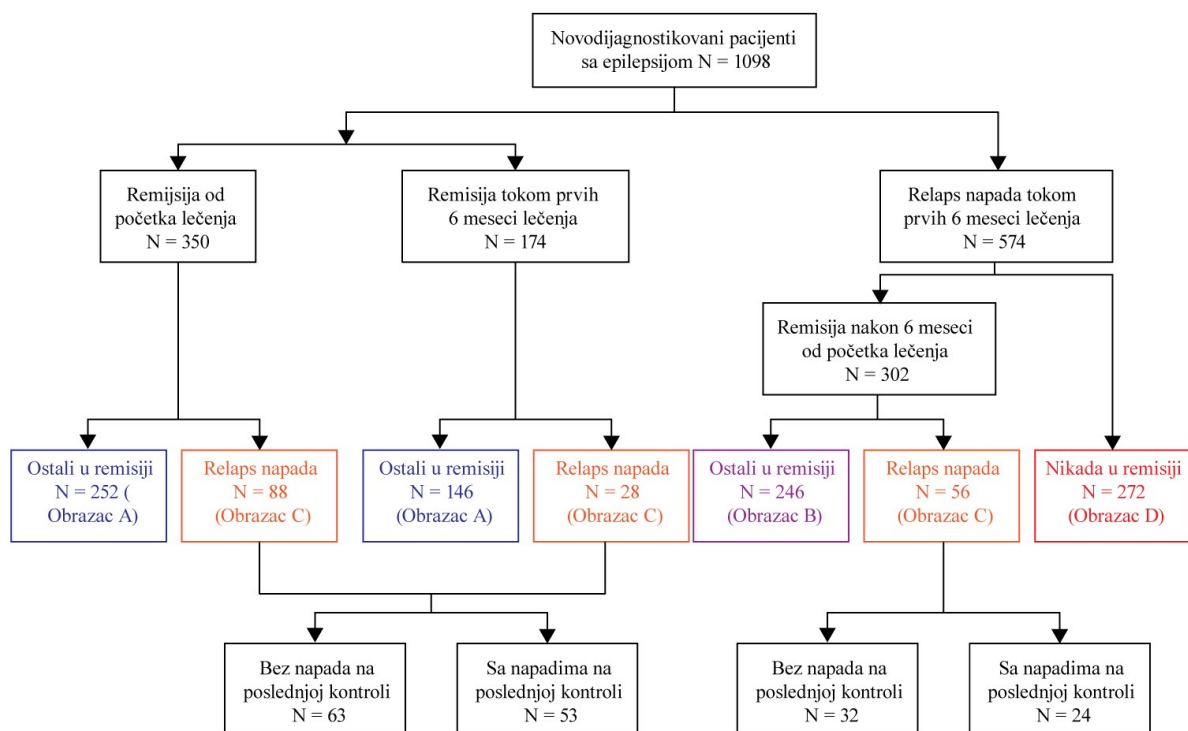
Prospektivno praćena kohorta pacijenta sa epilepsijom obolelih u pedijatrijskom uzrastu u Finskoj je nakon 45 godina pokazala da većina pacijenta postiže dugoročnu i stabilnu remisiju (Sillanpää et al., 2015). Među preživelim pacijentima 61% je bio u terminalnoj desetogodišnjoj remisiji, a čak 43% je bilo u remisiji bez antiepileptičkih lekova (AEL). Ključna determinanta prognoze je bila etiologija bolesti tako da je nakon 45 godina praćenja, 95% obolelih od idiopatske i 72% obolelih od kriptogene epilepsije bilo u terminalnoj desetogodišnjoj remisiji, dok je to postiglo samo 47% obolelih od simptomatske epilepsije. Šta više, 81% obolelih od idiopatske, 63% od kriptogene i svega 25% obolelih od simptomatske epilepsije je bilo u terminalnoj desetogodišnjoj remisiji bez EL (Slika 4). Međutim, u ovoj studiji nisu razlikovani obolelih od FE i GE zbog čega je u određenim grupama sagledana vrlo heterogena populacija pacijenata.



Slika 4 Stopa terminalne remisije u finskoj kohorti prema etiologiji epilepsije, adaptirano iz Sillanpää et al., 2015

Dobar marker prirodnog toka epilepsije je njen odgovor na farmakološko lečenje. U seminalnom istraživanju Kwan-a i Brodie-a sprovedenom u Glazgovu u Škotskoj utvrđeno je da je nakon neuspeha dva antiepileptička leka verovatnoća remisije sa svakim sledećim uvedenim lekom manja od 5% (Kwan and Brodie, 2000). Samim tim, sa velikom verovatnoćom je moguće identifikovati pacijente sa farmakorezistentnom epilepsijom (FRE) već tokom prve godine lečenja. Daljim prospektivnim praćenjem glazgovske kohorte između 1982. i 2008. godine (medijana praćenja 7,5 godina, IQR 4,7-12,0) pokazano je da prirodan tok lečene epilepsije može imati jedan od četiri obrasca (Slika 5). Prvi, označen kao obrazac A, u kome su pacijenti ulazili u remisiju tokom prvih šest meseci nakon uvođenja prve AEL, je imalo 408/1098 (37%) pacijenata. Obrazac B po kome su pacijenti ulazili u dugoročnu remisiju nakon više od šest meseci od uvođenja AEL je zabeležen kod 246, odnosno 22% pacijenata. Kod 172 (16%) pacijenata je opisan obrazac C po kome su pacijenti, nakon ulaska u inicijalnu remisiju tokom prvih 6 meseci, imali relaps napada i nisu ostajali u stabilnoj remisiji. Poslednji obrazac D je obuhvatao 272 (25%) pacijenata koji nikada nisu postigli remisiju napada (Brodie et al., 2012).

Na žalost, ovakav obrazac odgovora na AEL se nije značajno menjao od druge polovine XX veka do danas, uprkos razvoju velikog broja novih lekova za lečenje epilepsije (Löscher and Schmidt, 2011). Sander je još 1993. godine predložio klasifikaciju obolelih od epilepsije u 4 kategorije (Sander, 1993). U prvoj grupi koja obuhvata 20-30% svih obolelih je prognoza *odlična* sa velikom verovatnoćom spontane remisije. Ova grupa obuhvata obolele od samoograničenih epileptičkih sindroma neonatalnog, infantilnog i dečjeg perioda i refleksne epilepsije. *Dobru* prognozu ima oko 30-40% svih obolelih, među kojima su mnogi oboleli od FE ili dečje apsantsne epilepsije. Kod ove grupe pacijenta se očekuje dobra kontrola napada uz upotrebu AEL kao i velika verovatnoća dugoročne remisije nakon isključivanja terapije U trećoj grupi je 10-20% svih obolelih sa *nesigurnom* prognozom koja podrazumeva nepredvidiv odgovor na AEL i malu verovatnoću dugoročne remisije nakon ukidanja terapije. U ovoj grupi su oboleli od juvenilne miokloničke epilepsije i većina obolelih od fokalne epilepsije. Poslednjoj grupi pripada oko 20% obolelih od epilepsije koji imaju *lošu* prognozu. Kod ovih pacijenata se napadi održavaju uprkos primeni AEL, a među njima su oboleli od progresivnih ili kongenitalnih neuroloških oboljenja praćenih epilepsijom, ali i mnogi oboleli od FE. Ovakva struktura obolelih je u velikoj meri nepromenjena do danas uprkos razvoju novih dijagnostičkih i terapijskih mogućnosti (Beghi, 2020).



Slika 5 Slika 5 Prirodni tok lečene epilepsije, adaptirano iz Brodie et al., 2012

Tip napada i epilepsije može uticati na njenu prognozu. Nakon 20-godišnjeg praćenja pacijenta u Ročesteru, 74% obolelih je bilo u petogodišnjoj remisiji (Annegers et al., 1979). Među obolelima od GE, 85% onih sa bilateralnim motornim i 80% obolelih sa apsansnim napadima je imalo petogodišnju remisiju, dok je to postiglo svega 65% obolelih od FE. Kada su posebno analizirani pacijenti u remisiji nakon obustave AEL nađena je verovatnoća remisije preko 50% za obolele od GE i svega 35% za obolele od FE. Slični rezultati dobijeni su analizom finske kohorte nakon 40-godišnjeg praćenja – 87% obolelih od GE i svega 66% obolelih od FE je bilo u petogodišnjoj terminalnoj remisiji (Sillanpää and Schmidt, 2006). U istoj studiji je praćeno 90 pacijenata nakon obustave AEL koji su bili u stabilnoj petogodišnjoj remisiji na AEL. Među njima 33 je imalo relaps bolesti, a kod osmoro je ponovno uvedena AEL. Interesantno je da su među njima samo dva pacijenta ušla u remisiju nakon ponovnog uvođenja AEL. Među preostalim šest pacijenata sa perzistentnim napadima na AEL je bio jedan pacijent sa prethodnim West-ovim sindromom, dok su preostalim pet imali FE. U pedijatrijskoj populaciji, rani razvoj farmakorezistencije (tokom prvih 18 meseci praćenja) je najčešće opserviran kod obolelih od simptomatske GE (33%). Druga najčešća epilepsija među FRE je bila FE sa 13% (Berg et al., 2001). Možemo dakle zaključiti da FE ne samo da ima lošiji odgovor na AEL u odnosu na GE, već je verovatnoća njene dugogodišnje remisije bez upotrebe AEL daleko manja.

#### 1.2.4 Mortalitet u fokalnoj epilepsiji

Oboleli od epilepsije imaju veći rizik od smrti u odnosu na opštu populaciju. Podaci o mortalitetu u epilepsiji dobijeni iz različitih izvora variraju u širokom rasponu. Standardizovani odnos mortaliteta (eng. *standardized mortality ratio*, SMR), mera povećanog rizika od smrti u odnosu na opštu populaciju istog uzrasta, u razvijenim zemljama varira između 1,6 i 4,1 (Neligan et al., 2012). Podaci iz bolničkih kohorti pokazuju vrednosti od 1,9 do 5,1, dok su oni nađeni u populacionim registrima obično manji (između 1,3 i 3,1) (Shackleton et al., 2002). U zemljama u razvoju SMR je veći i kreće se u rasponu od 1,3 do čak 7,2 (Neligan et al., 2012). U većini studija nađen je veći SMR

kod muškaraca i kretao se između 1,4 i 2,7, dok je kod žena bio između 1,0 i 2,3 (Hauser et al., 1980; Lindsten et al., 2000; Olafsson et al., 1998).

Povećana smrtnost od epilepsije je veća kod dece i najveća je tokom prve dve godine od postavljanja dijagnoze, međutim najveći deo inicijalnog rizika nije posledica same epilepsije već bolesti koja je uzrokuje (Loiseau et al., 1999). Podaci iz ročesterskog registra pokazuju postepeni pad SMR tokom prvih 10 godina od postavljanja dijagnoze, nakon čega on ponovo raste da bi nakon 25 godina bolesti dostigao vrednosti slične onim tokom inicijalnih godina (Hauser et al., 1980). Slični podaci su nađeni i u švedskoj studiji (Lindsten et al., 2000). Kasni porast SMR je verovatno posledica faktora vezanih za samu bolest kao što su učestalost i težina napada i dugoročna izloženost AEL (Forsgren and Sillanpää, 2012). Sveukupno, epilepsija dovodi do skraćenja životnog veka od oko 2 godine kod obolelih sa idiopatskom ili kriptogenom epilepsijom, i čak 10 godina kod obolelih od simptomske epilepsije (Gaitatzis et al., 2004). Šta više, SMR nije značajno drugačiji danas u odnosu na onaj u studijama iz sredine XX veka, uprkos unapređenju lečenja epilepsije i produženja životnog veka kod većine obolelih. Ovo se verovatno može objasniti povećanim preživljavanjem obolelih od moždanog udara među kojima kod mnogih epilepsija ostaje kao sekvela i koji čine sve veći udeo obolelih od epilepsije (Neligan et al., 2010).

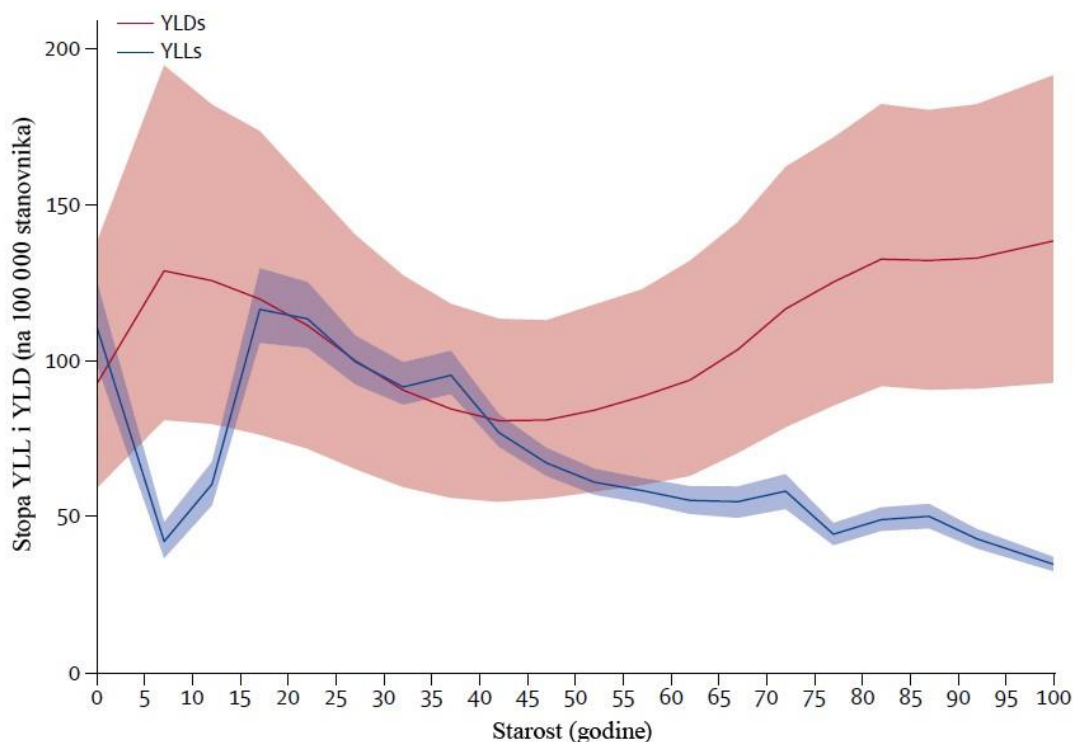
Među uzrocima smrti u razvijenim zemljama dominiraju uzroci koji nisu vezani za epilepsiju kao što su pneumonija, cerebrovaskularne i maligne bolesti. Nasuprot tome, uzroci smrti obolelih od epilepsije u zemljama u razvoju su najčešće vezani za epilepsiju, kao što su epileptički status, povrede i utopljenja tokom napada ili iznenadna neočekivana smrt u epilepsiji (eng. *sudden unexpected death in epilepsy*, SUDEP) (Levira et al., 2017). SUDEP zahteva posebnu pažnju zbog toga što je vodeći uzrok smrti među mladim osobama obolelim od epilepsije. Walczak i sar. su našli da je incidencija SUDEP 1,21 na 1000 pacijent godina i da nosi udeo od čak 18% svih uzroka smrti osoba sa epilepsijom (Walczak et al., 2001). Najveća učestalost SUDEP nađena je u finskom registru i iznosila je 30% svih uzroka smrti (Sillanpää and Shinnar, 2010). FRE, velika učestalost napada, rani početak i dugo trajanje epilepsije su identifikovani kao faktori rizika za SUDEP (Tomson et al., 2005).

Pacijenti sa FE nisu imali povećanu smrtnost u odnosu na opštu populaciju u ročesterskoj (SMR = 1,5, bez statistički značajne razlike) (Hauser et al., 1980), kao ni islandskoj studiji (SMR = 1,5, 95% CI 0,7-2,8) (Olafsson et al., 1998), međutim ove studije su bile ograničene na obolele od kriptogene ili idiopatske epilepsije. U švedskoj studiji koja je uključila obolele od FE svih etiologija je nađen povećan SMR (2,1 96% CI 1,2-3,6) (Lindsten et al., 2000). Verovatno je ovakav rezultat dobijen usled lošije prognoze simptomske FE, što je delimično uslovljeno mortalitetom kauzalnog oboljenja, a delom i usled toga što je kod ovih pacijenta sama epilepsija često teža sa slabijim terapijskim odgovorom i većim opterećenjem napadima.

### 1.2.5 Opterećenje fokalnom epilepsijom

Epilepsija je značajan uzročnik gubitka zdravlja kroz prevremenu smrt i hroničnu onesposobljenost. Prema podacima sistematske analize Globalnog opterećenja bolestima iz 2015. godine, epilepsija je odgovorna za 0,5% ukupnog globalnog opterećenja bolestima i 5% globalnog opterećenja neurološkim bolestima (GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group, 2017).

Korekcija godina života usled bolesti (eng. *disability-adjusted life-years*, DALY) je parametar dobijen sumiranjem izgubljenih godina života usled prevremene smrti (eng. *years of life lost*, YLL) i godina života sa onesposobljenošću (eng. *years of life with disability*, YLD) i za idiopatsku epilepsiju iznosi 182,6 na 100000 stanovnika (GBD 2016 Epilepsy Collaborators, 2019). Ovo pozicionira epilepsiju na peto mesto među neurološkim bolestima, iza moždanog udara, migrene, demencije i meningitisa. Odnos YLD i YLL i starosti je prikazan na Slika 6. Meta analizom studija o troškovima usled epilepsije je nađeno da zemlje Evropske Unije delegiraju približno 1% ukupnih zdravstvenih troškova na lečenje epilepsije (Kotsopoulos et al., 2002).



Slika 6 YLL i YLD usled epilepsije u zavisnosti od starosti, adaptirano iz GBD 2016 Epilepsy Collaborators 2019

Do danas nisu rađene epidemiološke studije koje su izučavale globalno opterećenje FE, ali kako od FE boluje približno 60% svih obolelih od epilepsije, kao i kako ovi pacijenti često imaju nepovoljan tok bolesti, možemo zaključiti da većinski udeo opterećenja epilepsijom nastaje upravo zbog FE. Studije koje su specifično izučavale kvalitet života kod pacijenta sa FE su našle povezanost sa učestalošću napada (Gupta et al., 2017), težinom napada (Baker et al., 1998) i prisustvom komorbiditeta (Silva et al., 2019).

Sveukupno se može zaključiti da je fokalna epilepsija, kao često i neretko teško kontrolisano oboljenje, veliko opterećenje za obolelog, kao i društvo. Među glavnim faktorima koji determinišu tok bolesti je identifikovana etiologija bolesti koja je i dalje nedovoljno izučena i čijim boljim razumevanjem verovatno možemo unaprediti njeno lečenje.

### 1.3 Savremeni koncepti etiologije fokalne epilepsije

#### 1.3.1 Istorijska evolucija etiološke paradigme epilepsije

*“Aktuelno verovanje među antičkim misliocima i među mnogima u današnje vreme je da je epilepsije pre svega nasledno oboljenje”*

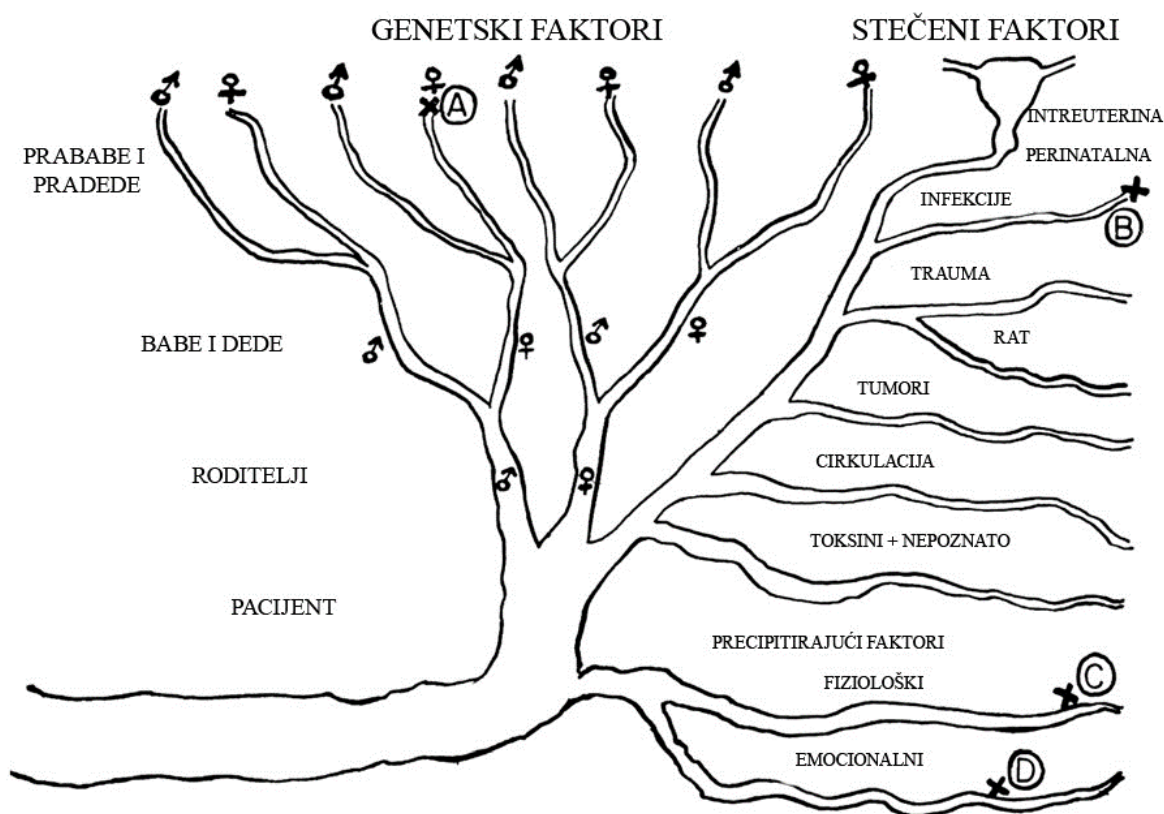
*John Russell Reynolds, 1861.*

Kako je epilepsija heterogena grupa oboljenja varijabilne kliničke prezentacije, toka i prognoze, veliki naponi su uloženi u klasifikaciju epilepsija koja bi omogućila odgovarajući okvir za bolje razumevanje pojedinačnih entiteta, kao i olakšala komunikaciju između kliničara i pacijenata. Iako su etiološki osnovi epilepsije razmatrani još u vreme Hipokrata, temelji današnjih koncepata su postavljeni sredinom XIX veka. Prvi poznati pokušaj etiološke klasifikacije epilepsija je napravljen od strane britanskog epileptologa, John Russell Reynolds-a koji je 1861. opisao četiri etiološke grupe epilepsija – *simptomatske*, koje su u sprezi sa strukturnim bolestima mozga, *ekscentrične*, vezane za oboljenja unutrašnjih organa, *dijetetičke* koje nastaju kao posledica nutritivnih poremećaja i na kraju *idiopatske* koje predstavljaju *morbus per se* (Reynolds, 1862). Reynolds-ov učenik, Hughlings

Jackson, je prepoznao da u nastanku FE moramo praviti razliku između *neposrednog* uzročnika epileptičkih napada, koga je pripisivao celularnim poremećajima u okviru epileptičkog fokusa i *udaljenog* uzročnika, kao što su strukturne lezije koje posredno dovode do ćelijskih poremećaja u samom fokusu (York and Steinberg, 2009). Tako bi, na primer, u slučaju epilepsije nastale kao posledice moždanog krvarenja, hematoma bio udaljeni uzročnik, dok bi celularne promene nastale kao njegova sekvela bile neposredni uzročnik.

Iako je tokom prve polovine XX veka fokus istraživanja bio usmeren ka izučavanju naslednih uzročnika epilepsije, stručna zajednica se iz više razloga sredinom veka udaljava od ovog koncepta. Prvi razlog tome leži u katastrofalnim posledicama teorija naslednosti i posledične eugenike, koje su dovele do masovne sterilizacije i pokušaja istrebljenja obolelih od psihijatrijskih oboljenja i epilepsije u prvoj polovini XX veka. Drugi je otkriće novih dijagnostičkih modaliteta korisnih u utvrđivanju strukturnih moždanih oboljenja i metaboličkih poremećaja zbog čega je pažnja preusmerena prema epilepsijama sa vidljivom strukturnom etiologijom (Shorvon, 2014).

Među najvećim istraživačima u epileptologiji sredinom XX veka se izdvaja William Lennox, koji uprkos dominantnom interesovanju za nasledne epilepsije, održava ideju o multifaktorskoj prirodi epilepsije i prepoznaje da kod većine pacijenta postoji interakcija multiplih činioca koji združenim dejstvom dovode do nastanka bolesti (Slika 7).



Slika 7 Lennox-ov slikoviti prikaz multifaktorske etiologije epilepsije genetska vododelnica je prikazana kroz tri generacije dok je učešće genetskih i stečenih faktora prikazano kao ušće u jedinstveni vodotok koji predstavlja pacijenta, adaptirano iz Lennox and Lennox-Buchthal, 1960

U do tada najvećoj familijarnoj studiji u koju je uključeno 4000 obolelih od epilepsije, 20 000 njihovih bliskih srodnika, i 122 para blizanaca sa epilepsijom, Lennox je pokazao da se kod 22,9% obolelih može utvrditi postojanje moždanog oboljenja koje posledično dovodi do epilepsije (Lennox, 1951). Ove pacijente je označio kao obolele od *simptomatske* ili *stečene epilepsije*. Preostalih 77,1%



obolelih je označio kao obolele od *esencijalne* odnosno *genetske* epilepsije. Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju je imalo duplo više onih obolelih od *esencijalne* epilepsije u odnosu na one obolele od *simptomatske epilepsije* (3,6% vs. 1,8%). Mali procenat familijarne agregacije obolelih u ovoj studiji odražava često prikrivanje dijagnoze usled velike stigmatizacije koju su obolelih od epilepsije trpeli u prvoj polovini XX veka. Sa druge strane, relativno velika učestalost pozitivne porodične anamneze kod obolelih od simptomatske epilepsije sugerise kompleksan odnos genetske osnove i udruženih strukturnih i metaboličkih oboljenja u nastanku epilepsije.

Prva međunarodno prihvaćena klasifikacija epileptičkih napada je formulisana 1969. godine od strane ILAE komisije za klasifikaciju na čelu sa Henri Gastaut-om. Ona se sastojala od multidimenzionalne sheme u kojoj je fokus bio na kliničkoj, elektroencefalografskoj i etiološkoj karakterizaciji napada. Etiološka razmatranja su dozvolila četiri mogućnosti: *organsku etiologiju*, koja podrazumeva moždane lezije, metaboličke ili toksične faktore, *konstitucionu etiologiju*, koja podrazumeva verovatnu genetsku osnovu, *kombinaciju organske i konstitucione* kao i *nepoznatu etiologiju*, kada etiologiju nije moguće odrediti (Gastaut, 1970). Uprkos formalizaciji ove terminologije, u širokoj upotrebi ostaju termini *simptomatska*, *idiopatska* i *kriptogena* epilepsija, često uz nejasno razdvajanje poslednje dve. Uz ograničenja tadašnjih dijagnostičkih modaliteta, posledica upotrebe ovih termina je bila kategorizovanje velike većine obolelih kao obolele od idiopatske bolesti. Tako je u ročesterskoj populaciji između 1935. i 1967. etiologija bolesti utvrđena kod svega 23,3% obolelih, a nešto više kod obolelih od fokalne epilepsije (28,0%), dok su svi ostali pacijenti svrstani u grupu idiopatskih epilepsija (Hauser and Kurland, 1975). Među obolelima sa poznatim uzrokom epilepsije dominirala su cerebrovaskularna oboljenja (5,2%), moždane traume (5,2%), moždani tumori (4,1%), kongenitalne anomalije (3,9%), infektivne bolesti (2,9%) i encefalopatije nakon perinatalne anoksije (1,4%) (Slika 12).

Da bi se izbegla dalja terminološka konfuzija, ILAE 1989. godine uvodi zvaničnu definiciju etioloških kategorija (Commission on Classification and Terminology ILAE, 1989). Prema toj definiciji pod *simptomatskom* epilepsijom se podrazumeva epilepsija koja nastaje kao posledica moždane lezije ili metaboličke bolesti. Termin *idiopatska* pretpostavlja postojanje genetske osnove bolesti iako ona nije dokazana, dok *kriptogena* pretpostavlja simptomatsku bolest čija etiologija nije utvrđena. Uprkos tome ovi termini se i dalje često pogrešno koriste da sažmu više koncepata u jedan termin što dovodi do brojnih kontradiktornosti i konfuzije oko njihove pravilne upotrebe. Na primer, Dravet sindrom, za koji je danas poznato da je genetski determinisana epilepsija, 1989. nije svrstan među idiopatske sindrome, dok je genetska osnova sugerisana kod sindroma kod kojih za takvu tvrdnju nije bilo dokaza, kao što su samoograničena epilepsija sa centrotemporalnim šiljcima (eng. *self-limited epilepsy with centrotemporal spikes*, SeLECTS, ranije zvana benigna rolandička epilepsija detinjstva). Sa druge strane, među obolelima od kriptogene epilepsije, za koju se pretpostavlja leziona ili metabolička etiologija su identifikovani monogenetski, tzv. *mendelski* sindromi fokalne epilepsije, kao što je autozomno dominantna hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem (eng. *autosomal dominant sleep related hypermotor epilepsy*, ADSHE, ranije zvana autozomno dominantna noćna frontalna epilepsija) (Scheffer et al., 1995a).

Većina longitudinalnih studija sa dugoročnim praćenjem iz druge polovine XX veka se oslanja na ove termine. Zbog toga je veliki deo današnjeg razumevanja epidemiologije epilepsije različite etiologije ograničena nekompatibilnošću podataka iz različitih studija koje su na različit način definisale pojedine od ovih kategorija. Dodatnu konfuziju unosi činjenica da su mnogi pacijenti sa diskretnim kortikalnim lezijama, zbog ograničenja dijagnostičke aparature korišćene u drugoj polovini XX veka, svrstani u grupu kriptogene ili čak idiopatske epilepsije (kao što je slučaj u studijama iz ročesterskog registra). Ovo bitno otežava interpretaciju podataka iz starijih studija i njihovo poređenje sa onim iz poslednjih nekoliko decenija.

ILAE komisija za klasifikaciju i terminologiju 2010. godine formuliše nove transparentnije termine kao i kriterijume za njihovu upotrebu (Berg et al., 2010). Umesto termina idiopatska, savetuju uvođenje termina *genetska epilepsija*, koji podrazumeva ili stanja u kojima postoji dokazan kauzalni odnos genske varijante i bolesti ili ona u kojima postoji potvrđen obrazac nasleđivanja u dobro koncipiranim familijarnim studijama. Umesto termina simptomatska se predlaže povratak terminu *strukturna ili metabolička*, uz objašnjenje kako je svaka epilepsija simptomatska i odraz nekog, često skrivenog, patogenetskog mehanizma. Ovaj termin je smatran prikladnijim jer odražava činjenicu da kod obolelog postoji drugo zasebno oboljenje, bilo ono moždana lezija ili metabolički poremećaj, čija uloga u patogenezi epilepsije ne mora biti potpuno razjašnjena ali je empirijski pokazana. Komisija smatra da je termin kriptogena potrebno potpuno napustiti i zameniti ga terminom *epilepsija nepoznate etiologije* pod kojom bi se podrazumevali i oni oboleli sa diskretnim lezijama nedostupnim detekciji pomoću savremenih MR aparata, kao i oni sa bolestima ranije shvaćenim da su idiopatske, ali sa sad već jasnim odsustvom genetske osnove.

Predložene terminološke izmene su očekivano naišle na veliku kritiku stručne zajednice, među kojima je i ta da izjednačavanje *idiopatske* i *genetske* etiologije može dovesti do nepotrebne stigmatizacije usled sugerisanja nasledne osnove oboljenja onda kada za nju ne postoje čvrsti dokazi (Shorvon et al., 2019). Shorvon i sar. poredlažu rekonceptualizaciju etiološke klasifikacije u kojoj među simptomatskim epilepsijama na jednu stranu stavljaju stečene, a na drugu genetske i razvojne epilepsije (Tabela 1). Ova distinkcija je od posebne važnosti jer je danas jasno da mnoge genetski determinisane epilepsije mogu biti udružene sa strukturnim ili metaboličkim poremećajima. Uprkos kompleksnoj klasifikacionoj shemi sa preko stotinu mogućih etiologija, prema komentaru samih autora, preko 40% svih obolelih bi i dalje bili svrstani u heterogenu grupu kriptogenih epilepsija bez mogućnosti bliže etiološke determinacije.

Tabela 1 Predložena etiološka klasifikacija epilepsija od strane Simon-a Shorvon-a, adaptirano iz Shorvon et al., 2019

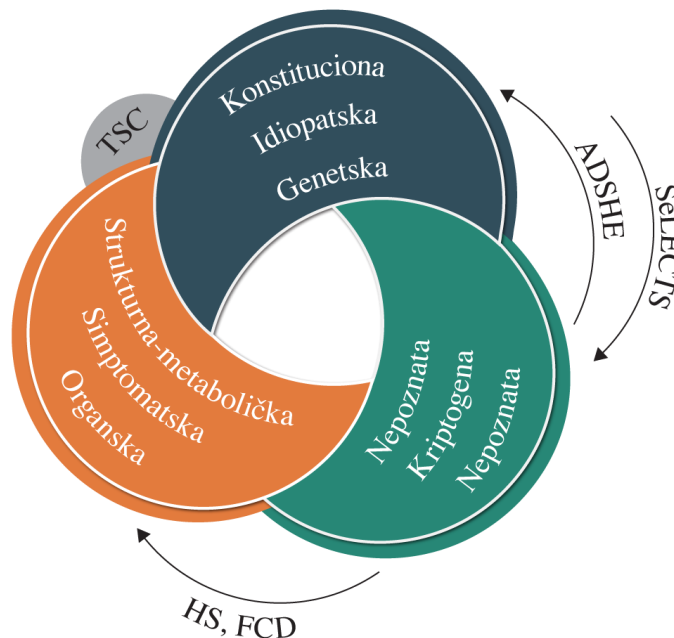
Glavna kategorija	Subkategorija	Primeri etiologije
Idiopatska epilepsija	Čiste epilepsije u kojima nema identifikovanog gena i kod kojih verovatno postoji kompleksna epistatička, epigenetska i razvojna komponenta	Idiopatske generalizovane epilepsije, SeLECTS
Simptomatske epilepsije predominantno genetske ili razvojne etiologije	Čiste monogenske epilepsije	SeLNE, SeLNIE, SeLIE, ADSHE, GEFS+, ADEAF
	D/EE i teški epileptički sindromi	DS, EIDEE, LKS*, LGS*, WS* (*neki slučajevi)
	Mitohondrijske bolesti sa udruženom epilepsijom	MEGDEL, Leigh-ov sindrom, MELAS, MERRF, NARP, sindromi vezani za varijante u POLG genu, poremećaji mitohondrijske delecije
	Progresivne miokloničke epilepsije	Unverricht-Lundborg-ova bolest, DRPLA, Lafora-ina bolest, NCL
	Neurokutani sindromi	TSC, NF, SWS
	Urođeni metabolički poremećaji i druga monogenska oboljenja	Angelman-ov sindrom, poremećaji metabolizma kreatina, CGD, poremećaji oksidacije masnih kiselina, Glut1-deficijencija, lizozomalne bolesti, Menkes-ova bolest, neuroakantocitoza, organske acidurije, PCDH19 sindrom, peroksizomalni poremećaji, porfirija, Rett-ov sindrom, CDKL5 encefalopatija, poremećaji ciklusa uree, Wilson-ova bolest, piridoksin zavisna epilepsija

	Krupne promene genoma (hromozomske aberacije i CNV)	Down-ov sindrom, fragilni X sindrom, 4p sindrom, izodicentrični hromozom 15, ring 20 i 14 hromozomi, Wolf-Hirschhorn-ov sindrom, sindrom X duplikacije
	Razvojne anomalije mozga	Agirija-pahigirija, agenezija corpus callosum-a, PMG, shizencefalija, PVNH, mikrocefalija, arahnoidalne ciste, hemimegalencefalija, FCD, tubulinopatije i poremećaji mTOR puta
Simptomatske epilepsije predominantno stečene etiologije	Hipokampalna skleroza	Ponekad podeljena po tipovima
	Moždana trauma	Otvorene i zatvorene povrede mozga, neurohirurgija, epilepsija nakon hirurgije epilepsije, neakcidentalne povrede glave kod odojčadi
	Tumori mozga	Gliomi, gangliogliomi, hamartomi, DNET, hipotalamički hamartomi, menigeomi, sekundarni tumori
	Moždana infekcija	Virusni meningitis i encefalitis, bakterijski meningitis i absces, malarija, neurocisticerkoza, tuberkuloza, HIV
	Cerebrovaskularne bolesti	Cerebralna hemoragija, ishemijski moždani udar, BMKS mozga, AV malformacije, kavernomi
	Imunološka oboljenja mozga	Rasmussen-ov encefalitis, SLE, inflamatorna i imunološka oboljenja
	Neurodegenerativne i druge neurološke bolesti	Alzheimer-ova bolest, MS, hidrocefalus, porencefalija
	Perinatalni i infantilni uzroci	Neonatalni napadi, DCO, vakcinacija i imunizacija
Provocirane epilepsije	Provokativni faktori	Febrilnost, menstrualni ciklus i katamenijalna epilepsija, ciklus budnosti i spavanja, metabolički i hormonski provocirani napadi, napadi provocirani lekovima, alkoholom ili toksinima
	Refleksne epilepsije	Fotosenzitivne epilepsije, epilepsija čitanja, auditorno provocirana epilepsija, epilepsija provocirana jedenjem, epilepsija provocirana toplom vodom, startle-indukovana epilepsija
Kriptogene epilepsije		

SeLECTS – samoograničena epilepsija sa centrotemporalnim šiljcima (eng. self-limited epilepsy with centrotemporal spikes), SeLNE – samoograničena neonatalna epilepsija (eng. self-limited neonatal epilepsy), SeLNIE – samoograničena neonatalna/infantilna epilepsija (eng. self-limited neonatal/infantile epilepsy), SeLIE – samoograničena infantilna epilepsija (eng. self-limited infantile epilepsy), ADSHE – autozomno dominantna hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem, (eng. autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy), GEFS+ – genetska epilepsija sa febrilnim napadima plus (eng. genetic epilepsy with febrile seizures plus), ADEAF – autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima, D/EE – razvojna i/ili epileptička encefalopatija (eng. developmental and/or epileptic encephalopathy), DS – Dravet sindrom, EIDEE – rana infantilna razvojan/epileptička encefalopatija (eng. early infantile developmental and epileptic encephalopathy), LKS – Landau-Kleffner sindrom, WS – West sindrom, LGS – Lennox Gastaut sindrom, MEGDEL – 3-metilglutakonska acidurija, distonija i gluvoća, encefalopatija i Leigh-u sličan sindrom, MELAS – mitohondrijalna encefalomiopatija, laktička acidoza i epizode slične moždanom udaru (eng. mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes), MERFF – mioklonička epilepsija sa nazubljenim crvenim nitima (eng. myoclonic epilepsy and ragged red fibers), NARP – neurogena mišićna slabost, ataksija i retinitis pigmentosa, DRPLA – dentato-rubro-palido-luizijana atrofija, PME – progresivna mioklonička epilepsija, NCL – neuronalna ceroidna lipofuscinoza, TSC – kompleks tuberozne skleroze (eng. tuberous sclerosis complex), NF – neurofibromatoza, SWS – Sturge-Weber sindrom, CNV – varijanta broja kopija (eng. copy number variant), CGD – hronično graunlomatozno oboljenje (eng. chronic granulomatous disease, FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. focal cortical dysplasia), PMG - polimikrogirija, PVNH – periventrikularna nodularna heterotopija, DNET – disembrioplastični neuroepitelijalni tumor, HIV – humani virus imunodeficijencije, BMKS – bolest malih krvnih sudova, AV – arterijovenska, MS – multipla skleroza, DCO – dečja cerebralna oduzetost

Verovatno je među svim kritikama najvažnije istaći činjenicu da, iako su ograničenja dosadašnje grube kategorizacije prepoznata, ona predlogom iz 2010. nisu i prevaziđena. Etiološki grupisana oboljenja se mogu u većini slučajeva lako pretočiti iz jedne u drugu klasifikacionu shemu od 1969. do 2010, dok neki novootkriveni entiteti koji ne podležu ovako grubom razdvajanju i dalje

nemaju svoje pravo mesto (Slika 8). Jasno je bilo da bi u daljem diskursu fokus trebalo pomeriti od težnje ka grupisanju u nesavršene kategorije, prema definisanju preciznih mehanizama patogeneze bolesti koji bi onda u budućnosti mogli iznedriti nove klasifikacione sheme (Korff and Scheffer, 2013). Zbog toga nova ILAE klasifikacija epilepsija iz 2017. dozvoljava definisanje višestrukih etiologija kod svakog pojedinca i baca poseban akcenat na istovremeno prisustvo genetskih i drugih činilaca (Slika 1) (Scheffer et al., 2017).



Slika 8 Evolucija epidemiološke klasifikacije epilepsija ILAE od 1969-2010. TSC – kompleks tuberozne skleroze (eng. tuberous sclerosis complex); ADSHE – autozomno dominantna hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem, (eng. autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy); SeLECTS – samoograničena epilepsija sa centrotemporalnim šiljcima (eng. self-limited epilepsy with centrotemporal spikes), HS – hipokampalna skleroza, FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. focal cortical dysplasia)

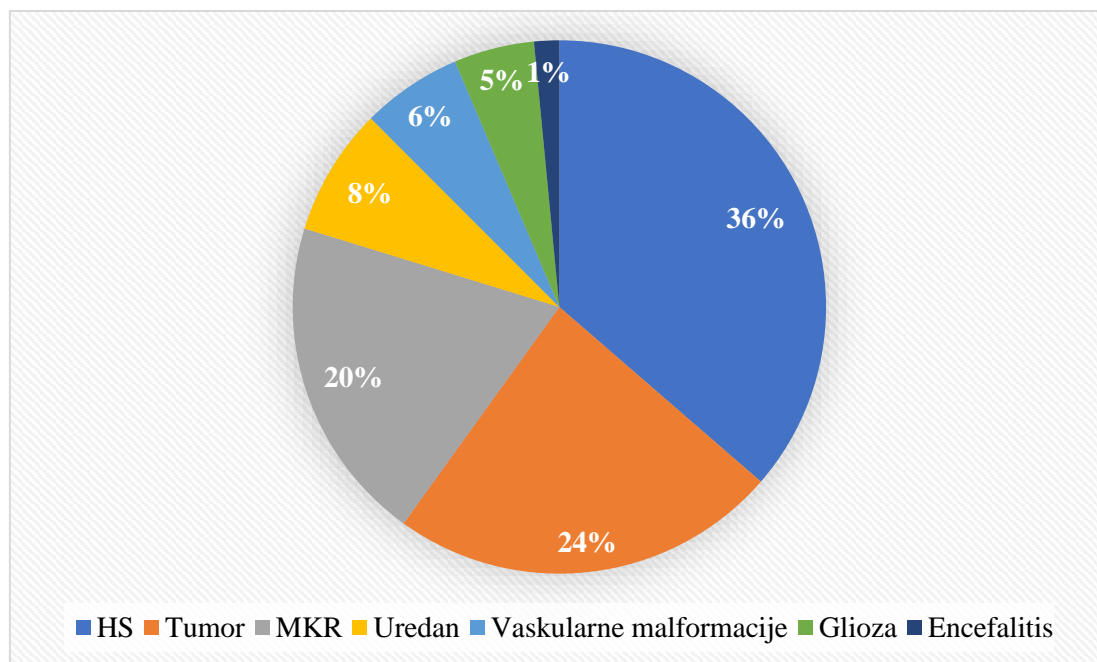
### 1.3.2 Strukturna etiologija fokalne epilepsije – epileptogena lezija

Veliki napredak u razumevanju etiologije pogotovu FE su donele neurovizuelizacione metode. Sredinom XX veka za lokalizaciju fokalnih moždanih lezija korišćen je isključivo klinički pregled ili EEG, koji iako daje odličnu vremensku, ima izuzetno slabu prostornu rezoluciju. Uz to, izuzev u izuzetno retkim slučajevima, ne daje mogućnost etiološkog razlikovanja lezija. Uvođenje kompjuterizovane tomografije (eng. *computerized tomography*, CT) omogućilo je vizuelizaciju manjih lezija i ponekad i njihovo razlikovanje, ali ključna prelomna tačka nastupa tek sa uvođenjem aparata za MR u svakodnevnu kliničku praksu. Pomoću MR moguća je ne samo detekcija diskretnih lezija, već i neinvazivno određivanje njihove prirode, što je pre njene upotrebe bilo dostupno samo patohistološkim pregledom obdukcijskih ili hirurških preparata. Uz to, upotreba MR mozga je neizostavni deo prehirurške evaluaciji pacijenta sa fokalnom FRE.

S napredovanjem MR tehnologije razvijena je tzv. *MR visoke rezolucije* koja se danas rutinski primenjuje u epileptologiji. Ona sa razvojem hirurškog lečenja epilepsije dobija poseban značaj ne samo zbog značaja lokalizacije epileptogene lezije za definisanje zone resekcije već i zbog velikog prediktivnog značaja etiologije za dugoročni ishod operativnog lečenja (Lamberink et al., 2020). Jedina zvanična preporuka o tehničkim zahtevima za snimak MR mozga u dijagnozi epilepsije je izdata od strane ILAE 1997. godine i uspostavlja minimalni standard dijagnostike u epileptologiji (Commission on Neuroimaging ILAE, 1997). Analizom 2740 pacijenata u hirurškom centru u Bonu, formulisane su unapređene smernice za akviziciju MR koje su visokoosetljive za detekciju

epileptogene lezije (EL), ali istovremeno dostupne svim hirurškim centrima. Autori su pokazali da je 84,4% lezija vidljivih na MR snimku detektovano samo pomoću FLAIR (eng. *fluid attenuated inversion recovery*) sekvence, potom 91,6% ako se doda koronarni T2w (eng. *T2 weighted*) snimak, 97,4% kada se doda T2\*, 99,4% kada se doda T1w IR (eng. *T1 weighted inversion recovery*) (Wellmer et al., 2013). Daljim usavršavanjem protokola akvizicije, kao i evaluacijom snimka od strane posebno edukovanog neuroradiologa na čak i do 1/3 prethodno nelezionih MR snimaka se može uočiti epileptogena lezija (Kreilkamp et al., 2019). Dodatkom tzv. 3D FLAIR sekvence na aparatu jačine polja 3 T, koji je trenutno najsenzitivniji komercijalni metod za detekciju kortikalnih lezija, senzitivnost za detekciju hipokampalne skleroze (HS) se približava 100% (Urbach et al., 2015).

Prirodu EL nije uvek moguće definisati upotrebom MR i definitivnu dijagnozu je moguće napraviti samo patohistološkim pregledom tkiva. Podaci iz najveće baze hirurških preparata obolelih od epilepsije, Evropske banke mozгова obolelih od epilepsije (eng. *European Epilepsy Brain Bank EEBB*), pokazuju da je daleko najčešća patologija kod operisanih pacijenata HS, potom tumori, i to najčešće tumori povezani sa dugoročnom epilepsijom (eng. *long term epilepsy associated tumor*, LEAT), a potom malformacije kortikalnog razvoja (eng. *malformations of cortical development*, MCD) (Blumcke et al., 2017). Pregled patohistoloških nalaza iz EEBB dat je na Slika 9. U manjoj studiji iz našeg Centra za epilepsiju, u kojoj je analizirano 77 operisanih pacijenata, pokazana je kongruencija dijagnoze EL postavljene neuroradiološim i patohistološkim pregledom od 80%. Najčešća dijagnostička greška je bila neprepoznavanje udružene fokalne kortikalne displazije (eng. *focal cortical dysplasia*, FCD) uz postojeću HS ili tumor kod dva pacijenta na MR snimku (Kovačević et al., 2015). Iz ovoga proizilazi da iako je MR mozga moćna, ona nije i idealna alatka u definisanju strukturne etiologije FE.



Slika 9 Patohistološki nalaz kod pacijenata operisanih zbog epilepsije iz EEBB

Kombinovanjem podataka iz meta analize 40 epidemioloških studija i patohistoloških nalaza iz EEBB i velikog hirurškog centra u SAD (Kliviend klinke u Ohaju) López-Rivera i sar. su procenili godišnju prevalenciju i incidenciju najčešćih hirurški lečivih patologija kod odraslih i dece (López-Rivera et al., 2022). Najčešća patologija kod hirurških kandidata u adultnom uzrastu je bila HS, dok su u pedijatrijskoj populaciji to bile MCD (Tabela 2) i to najčešće FCD tip II (prosečna jednogodišnja prevalencija  $2,90 \pm 0,84$  na 100 000, incidencija  $0,51 \pm 0,15$  na 100 000 stanovnika godišnje).

Tabela 2 Procenjena prosečna jednogodišnja prevalencija i incidencija najčešćih lezija povezanih sa epilepsijom kod odraslih i dece, adaptirano iz López-Rivera et al, 2022

	Prosečna jednogodišnja prevalencija na 100000 ( $\bar{X} \pm SD$ )		Incidencija na 100000 stanovnika godišnje ( $\bar{X} \pm SD$ )	
	Odrasli	Deca	Odrasli	Deca
HS	19,40 $\pm$ 2,16	2,43 $\pm$ 0,71	2,32 $\pm$ 0,26	0,44 $\pm$ 0,13
MCD	6,03 $\pm$ 0,67	6,52 $\pm$ 1,89	0,72 $\pm$ 0,08	1,15 $\pm$ 0,34
LEAT	9,56 $\pm$ 1,07	4,35 $\pm$ 1,26	1,14 $\pm$ 0,13	0,77 $\pm$ 0,23
Glioza	2,12 $\pm$ 0,24	0,99 $\pm$ 0,29	0,25 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,05
Vaskularna malformacija	3,14 $\pm$ 0,35	0,51 $\pm$ 0,15	0,37 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,02
Encefalitis	0,39 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,16	0,04 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,03

Iako podaci iz hirurških kohorti daju veću pouzdanost etiološke dijagnoze, one nisu reprezentativne za čitavu populaciju pacijenata sa epilepsijom jer obuhvataju isključivo obolele od tzv. *hirurški lečivih sindroma*. To podrazumeva pacijente sa fokalnom FRE kod kojih je moguće lokalizovati jedinstvenu *epileptogenu zonu* čijom resekcijom se sa razumnom verovatnoćom može očekivati kontrola epileptičkih napada. Ova grupa pacijenata obuhvata svega 3-9% svih obolelih od fokalne epilepsije (Lhatoo et al., 2003; López-Rivera et al., 2022). Zbog toga sveobuhvatniji pregled etiologije fokalne epilepsije dobijamo iz MR studija u koje su uključeni reprezentativni uzorci pacijenata.

Wieshmann je u studiji koja je obuhvatala 919 pacijenata i u koju su bili uključeni pacijenti sa prvim napadom, kao i pacijenti sa ranije ustanovljenom epilepsijom (aktivnom ili u remisiji) našao EL na 252 od 495 učinjenih snimaka (51%) (Wieshmann, 2003). Među njima 128 je imalo HS, 35 hiperintenzne lezije bele mase ili atrofiju mozga, 27 vaskularne abnormalnosti (koje su podrazumevale sekvele moždanog udara, kavernome ili arteriovenske malformacije), 25 tumore, 24 moždano oštećenje, 13 MCD. Prevalencija EL (u koje nisu računate atrofija ili hiperintenzne lezije bele mase) je bila 54% među obolelim od aktivne fokalne epilepsije, 18% među pacijentima sa jednim napadom, a 16% među onima sa epilepsijom u remisiji. Ograničenje ovako sagledane etiološke slike je u nedovoljnoj zastupljenosti pacijenata u remisiji (svega 46 pacijenata), od kojih je za samo 19 MR mozga bio dostupan, te je rezultat nagnut u korist obolelih sa težom kliničkom slikom.

Studije koje su pratile pacijente sa novodijagnostikovanom epilepsijom prevazilaze ovaj problem, ali su ograničene nepouzdanošću postavljene dijagnoze. King i sar. su opisali MR nalaz kod 300 prospektivno praćenih pacijenata sa prvim epileptičkim napadom. Prisustvo EL nađeno je kod 38 od 154 pacijenata sa FE, odnosno 24,7% (King et al., 1998). Važno je istaći da je MR mozga omogućio reklasifikaciju čak 12 pacijenata. Kod jednog pacijenta prethodno dijagnostikovanog kao GE i 11 pacijenata sa NE dijagnoza je promenjena u FE nakon ustanovljene EL na MR mozga. Hakami i sar. su našli prisustvo epileptogene lezije (EL) kod 28% svih pacijenata sa novodijagnostikovanom epilepsijom (Hakami et al., 2013). U grupi obolelih od FE svega 71/275 (26%) pacijenata je imalo tzv. nelezionu epilepsiju. Međutim, u ovoj kohorti je bila velika zastupljenost pacijenata obolelih od NE, a među njima čak 179/233 (77%) nije imalo EL na MR mozga. Kako se radi o novodijagnostikovanoj epilepsiji, verovatno je veliki broj pacijenata sa NE u stvari oboleo od nelezionne fokalne epilepsije. Među 177 nađenih EL identifikovano je 85 snimaka glioze i encefalomalacije, 26 razvojnih anomalija (uključujući MCD i ekstraaksijalne anomalije), 26 vaskularnih anomalija, 26 tumora i 14 HS.

Etiološka struktura obolelih od epilepsije u zemljama u razvoju se razlikuje od one u razvijenom svetu. Studija iz Indije koja je analizirala MR mozga u studiji sa 129 pacijenata sa prvim napadom našla je prisustvo EL kod 59/129 (47%) ispitanika i čak 81% onih sa FN (Ponnatapura et al., 2018). Među nađenim EL najčešće su bile inflamatorne lezije. Među njima je nađeno osam pacijenata sa neurocisticercozom i pet sa tuberkulomima, što sugeriše da je veći dijagnostički prinos

MR mozga u ovoj studiji bio usled česte pojave infektivnih uzročnika epilepsije. Etiološki spektar EL u ovim studijama dat je u Tabela 3

Jedina epidemiološka studija novijeg datuma koja je izučavala etiologiju epilepsije je sprovedena u okrugu Buskerud u Norveškoj (Syvertsen et al., 2015). Ovi pacijenti su bili pogodni za ovakvu vrstu analize jer norveški zdravstveni sistem zahteva upućivanje obolelih od epilepsije na neurološku ili pedijatrijsku evaluaciju, koja je izuzev jedne manje privatne prakse, ovoj populaciji bila dostupna samo u okviru jedne bolnice. U ovoj studiji, u kojoj je prevalencija aktivne epilepsije bila 6,5 na 1000 stanovnika, je registrovano 1293 pacijenata obolelih od FE od kojih je 570 (44,0%) imalo vidljivu leziju na MR mozga. Među najčešćim uzrocima epilepsije su bili moždani udar koji je imalo 162 (12,5%), hipoksičko-ishemijsku encefalopatiju 110 (8,5%), tumor 101 (7,8%) i trauma mozga 99 (7,7%) pacijenata, dok su lezije koje se tipično sreću u okviru epileptoloških centara bile daleko ređe – MCD 31 kod (2,4%) i HS kod 13 (1,0%) pacijenata.

Tabela 3 Etiološki spektar MR studija novodijagnostikovane epilepsije

	King et al., 1998	Hakami et al., 2013	Ponnapura et al., 2018
Glioza i encefalomalacija	6 (16%)	85 (48%)	6 (10%)
Razvojne anomalije	7 (18%)	26 (15%)	3 (5%)
Hipokampalna skleroza	4 (10%)	14 (8%)	11 (19%)
Vaskularne anomalije	2 (5%)	26 (15%)	12 (20%)
Tumori	17 (45%)	26 (15%)	6 (10%)
Ostalo	2 hidrocefalus (5%)	*	17 inflamatornih lezija (29%) 4 metabolička poremećaja (7%)
Ukupno	38	177	59

\*u studiji Hakami et al. Nađen je 1 pacijent sa hidrocefalusom koji nije klasifikovan kao EL

### 1.3.2.1 Neleziona fokalna epilepsija (NLFE) – dijagnostički i terapijski izazov

Prisustvo vidljive lezije na MR mozga pacijenta sa fokalnom epilepsijom omogućuje bolje razumevanje kako etiologije bolesti, tako i mogućnosti njenog lečenja. Nalaz solitarne kortikalne lezije kod pacijenta sa fokalnom epilepsijom podržava hipotezu da se u njenoj okolini nalazi epileptogena zona koja generiše epileptičke napade. Ukoliko su rezultati drugih dijagnostičkih modaliteta konkordantni sa njom, ova hipoteza predstavlja osnov za operaciju epileptogene zone sa EL (operacija tzv. *lezione epilepsije*). Očekivani uspeh ovako pripremljene operacije kod pacijenata sa HS ili tumorom je 60-70% (Berkovic et al., 1995; Spencer and Huh, 2008), a kod pacijenata sa MCD 40-70% (Jeha et al., 2007; Lerner et al., 2009) operisanih u punoj remisiji, bez epileptičkih napada (BN). Iako većina pacijenata sa fokalnom epilepsijom ima vidljivu leziju na snimku MR mozga, oko 20% pacijenata u hirurškim kohortama ima urednu MR mozga uprkos primeni aparata visoke rezolucije (Nguyen et al., 2013). Kod pacijenata sa nelezionom fokalnom epilepsijom operacija je značajno manje uspešna u kontroli epileptičkih napada (Bell et al., 2009; Noe et al., 2013), što se može dovesti u vezu sa više faktora. Epileptogenu zonu je teško odrediti u odsustvu EL jer su svi drugi neinvazivni dijagnostički modaliteti daleko slabiji prediktori njene lokalizacije u odnosu na EL. Sem toga, NLFE obuhvata grupu pacijenta sa heterogenom etiologijom bolesti (Woermann and Vollmar, 2009). Prehirurška priprema u ovom slučaju zahteva invazivno ispitivanje uprkos čemu uspeh operacije je slab: manje od 20-30% pacijenta je BN posle operacije (Bien et al., 2006).

Prevalencija NLFE varira u zavisnosti od ispitivane populacije pacijenata. Najmanja je u hirurškim serijama gde varira između 15% i 25%, što je razumljivo s obzirom na to da se radi o pažljivo selektovanoj populaciji pacijenata sa najvećom očekivanom verovatnoćom uspeha operativnog lečenja (Berg et al., 2003; Bien et al., 2009). Nasuprot tome, u populaciji pacijenata sa

fokalnom epilepsijom epileptoloških centara je ovaj broj značajno veći i obuhvata oko trećinu pacijenata (Nguyen et al., 2013). Najčešći patohistološki nalaz među operisanim pacijentima sa NLFE je FCD ili druge MCD, mada je kod velikog broja pacijenta nađena nespecifična gliozna ili čak normalan nalaz. Rezultati iz dve serije dati su u Tabela 4. Interesantno je istaći da je zastupljenost HS daleko manja u odnosu na njenu učestalost u EEGB u kojoj su daleko zastupljenije epilepsije sa vidljivom MR lezijom i u kojoj je HS vodeći uzročnik hirurški lečenje fokalne epilepsije (22% vs. 36,4%). Tumori povezani sa dugoročnom epilepsijom, izuzev jednog slučaja povezanog sa FCD koji je klasifikovan pod MCD, nisu ni registrovani u kohortama NLFE dok su u EEGB druga najčešća patologija. Uzevši ovo u obzir, možemo zaključiti da je etiologija NLFE često povezana sa MCD koje nisu detektibilne današnjim MR aparatima ali verovatno veliki uticaj imaju i drugi, npr. genetski mehanizmi, koji ne dovode do vidljivih promena u tkivu.

Tabela 4 Patohistološki nalaz u 2 hirurške serije NLFE

	Wang et al., 2013	Kim et al., 2017 *
MCD	55 (28%)	82 (76%)
HS	9 (9%)	/
Gliozna	21 (22%)	14 (13%)
Uredan	7 (7%)	10 (9%)
Ostalo	1 gubitak hipokampalnih neurona 1 disperzija hipokampalnih granularnih ćelija 1 oseosna metaplazija	2 ishemije 1 postinfektivne promene
Ukupno	96	109

MCD – malformacija kortikalnog razvoja (eng. *malformation of cortical development*), HS – hipokampalna skleroza; \*samo neokortikalna epilepsija

### 1.3.2.2 Prognostički značaj lezije na magnetnoj rezonanciji mozga

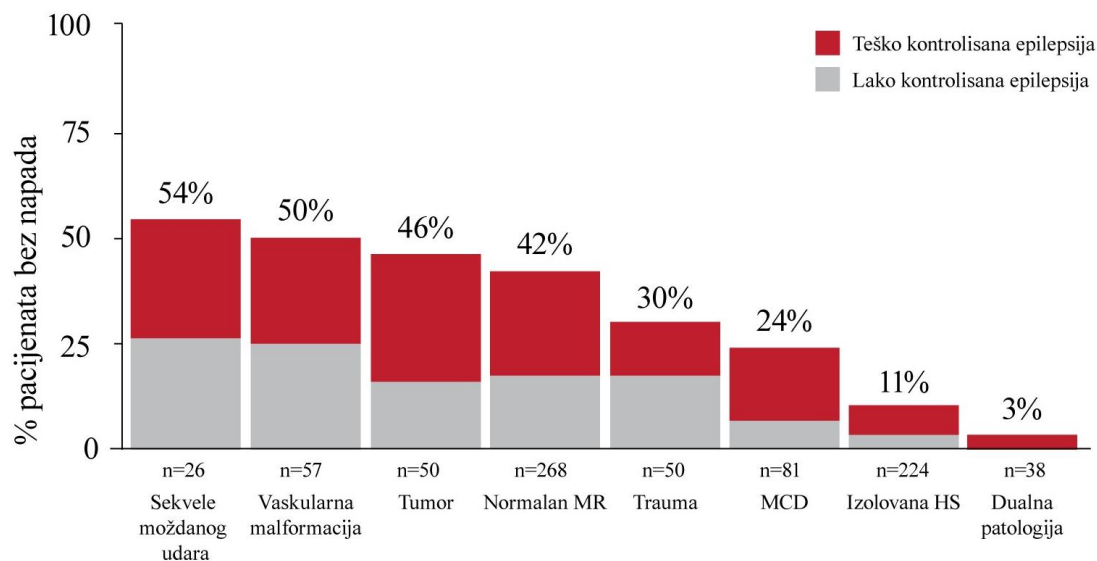
Kao što je spomenuto u prethodnom poglavlju, etiologija u velikoj meri determiniše prirodni tok bolesti, stoga njeno rano određivanje ima veliki prognostički značaj i daje važne informacije za pravilno planiranje optimalnog lečenja.

Velika studija iz Salpêtriére Hospital, referentnog tercijernog centra u Parizu, sa 2200 pacijenata (od kojih je 1369 imalo kliničku sliku FE) je pokazala daleko veću učestalost FRE među pacijentima sa EL na MR mozga u odnosu na one koji je nisu imali (42% vs. 25%,  $p < 0,001$ ) (Semah et al., 1998). Među pacijentima sa FE, priroda MR lezije je sa velikom verovatnoćom predviđala kontrolu napada primenom AEL (Slika 10). Najveći procenat pacijenata sa dobro kontrolisanom epilepsijom je bio u grupi pacijenata sa sekvelama moždanog udara, dok je najteža za kontrolu bila epilepsija udružena sa MCD, HS ili dualnom patologijom (udruženom HS sa drugom lezijom). Pacijenti bez vidljive EL na MR mozga su imali bolji odgovor na AEL od onih sa povredom glave, MCD, HS ili dualnom patologijom, ali ih je manje od polovine bilo BN, što sugeriše da odsustvo EL ne mora garantovati lako lečivu bolest.

Sponner i sar. su pokušali da identifikuju prediktore perzistentne epilepsije i FRE u populaciji pacijenata sa epilepsijom temporalnog režnja koja je počela u detinjstvu (Spooner et al., 2006). Pacijenti su praćeni od postavljanja dijagnoze između 1989. i 1992. godine do 2004. godine. Jedini statistički značajan prediktor FRE je bilo postojanje lezije na MR mozga, dok su početak u prvoj godini, perinatalna noksa, febrilni napadi, pozitivna porodična anemneza na epilepsiju, učestali napadi na početku bolesti, postojanje EEG promena, kao i inicijalna kontrola napada pomoću AEL, bili bez značaja. Šta više, među 19/62 pacijenata koji su bili BN, svi su bili bez terapije i nijedan nije imao EL vidljivu na MR mozga. Među 43 pacijenta sa perzistentnim napadima, 28 je imalo EL (10 HS, osam tumor, sedam FCD, i po jedan atrofiju temporalnog režnja, gliozu i arahnoidalnu cistu). Iz



navedenog se nameće zaključak da oboleli od leziona FE, pogotovu oni sa HS ili MCD po pravilu boluju od teške FRE.



Slika 10 Kontrola napada kod pacijenta sa fokalnom epilepsijom - uloga MR lezije, adaptirano iz Semah et al., 1998

Naše razumevanje prirodnog toka bolesti kod najčešćih EL dolazi iz kohorti u kojima dominiraju pacijenti sa teško lečivom epilepsijom. Shodno tome, nameće se pitanje koliko su ove lezije česta pojava među pacijentima sa lako kontrolisanom bolešću ili čak zdravoj populaciji. Odgovor na ovo pitanje su pokušali da daju Maynard i sar. koji su retrospektivno analizirali 97 pacijenata sa MR detektovanom FCD čiji pregled je rađen zbog različitih indikacija, uključujući epilepsiju i epileptičke napade. Među njima 69/97 (71,13, 95% CI 61,05 – 79,89%) je imalo epilepsiju, a 32/97 (32,99% 95% CI 23,78 – 43,27%) je imalo FRE (Maynard et al., 2017). Među 69 pacijenata sa epilepsijom, kod 67 je dijagnoza epilepsije postavljena tokom evaluacije. Od preostala dva pacijenta kod jednog je MR rađen zbog evaluacije glavobolja, a kod drugog zbog sumnje na moždanu leziju. Oba su naknadno razvila epilepsiju do trenutka sprovođenja studije. Među pacijentima bez epilepsije, dva su imala provocirane epileptičke napade, dok preostalih 26 nisu razvila epilepsiju tokom ove studije. To sugeriše da možda prirodan tok FCD ne mora uključivati FRE. Ipak, zaključci se moraju donositi sa velikim oprezom s obzirom na to da su pacijenti praćeni svega 3-4,5 godine, te je i dalje nejasno koji procenat pacijenta bi u daljem toku razvio FRE.

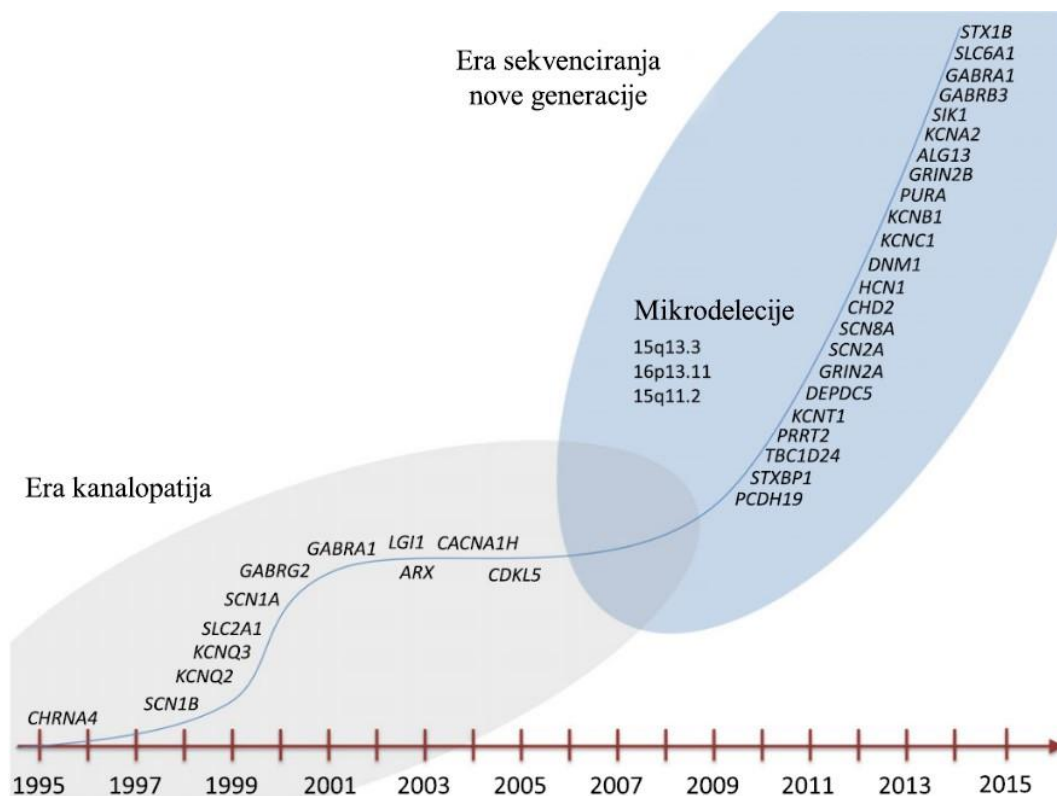
Više autora je pokušalo da utvrdi prevalenciju HS kod osoba bez epilepsije. Ranije patohistološke studije su prijavljivale incidentalan nalaz HS kod čak 10% obdukcija osoba bez dijagnoze epilepsije (Meencke and Veith, 1991), što nije potvrđeno u kasnijim studijama. Moore i sar. su analizirali MR temporalne kosti na kojima je vidljiv i hipokampus kod 207 subjekata sa oštećenjem sluha bez dijagnoze epilepsije, (Moore et al., 1999). HS je nađena kod dva pacijenta. Daljim ispitivanjem ova dva pacijenta je utvrđeno da boluju od prethodno nedijagnostikovane epilepsije. Jedina studija koja je analizirala snimke MR mozga zdravih osoba rađenih prema protokolu za snimanje pacijenta sa epilepsijom temporalnog režnja sa ciljem detekcije HS u zdravoj populaciji je uključivala samo 100 ispitanika. HS nije detektovana ni kod jednog od njih (Menzler et al., 2010). Ove studije sugerišu da HS u opštoj populaciji nije česta pojava i da je njeno postojanje verovatno snažan prediktor bolesti. U jednom italijanskom istraživanju je među pacijentima sa epilepsijom temporalnog režnja identifikovana subpopulacija sa blagom bolešću koja je definisana dvogodišnjim periodom BN sa ili bez AEL. Ovi pacijenti su tipično imali početak bolesti u adultnom periodu, pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, često normalan interiktalni EEG i retko nalaz

HS na MR mozga (Aguglia et al., 1998). Ipak, nakon dugoročnog praćenja ovih pacijenta oko 1/3 je razvilo FRE i to najčešće upravo pacijenti sa HS na MR mozga, čime je dalje apostrofirano da pozitivan nalaz na MR mozga predviđa lošiju prognozu, čak i kod pacijenta sa prividno lakšom bolešću (Labate et al., 2016).

MR je nesumnjivo unapredila naše razumevanje etiologije FE i samim tim dala veliki doprinos njenoj dijagnozi, prognozi i terapiji. Međutim, uprkos njenoj danas široko rasprostranjenoj primeni, značajan broj obolelih od epilepsije i dalje ostaje etiološki nerazjašnjen. Iako je ranije predviđano da će unapređenje MR tehnologije omogućiti vizuelizaciju EL kod gotovo svih pacijenata sa FE, danas je jasno da će suptilne molekularne izmene koje leže u osnovi bolesti kod nekih pacijenta zahtevati drugačiji pristup.

### 1.3.3 Nove metode u molekularnoj genetici – prozor u genetsku osnovu epilepsija

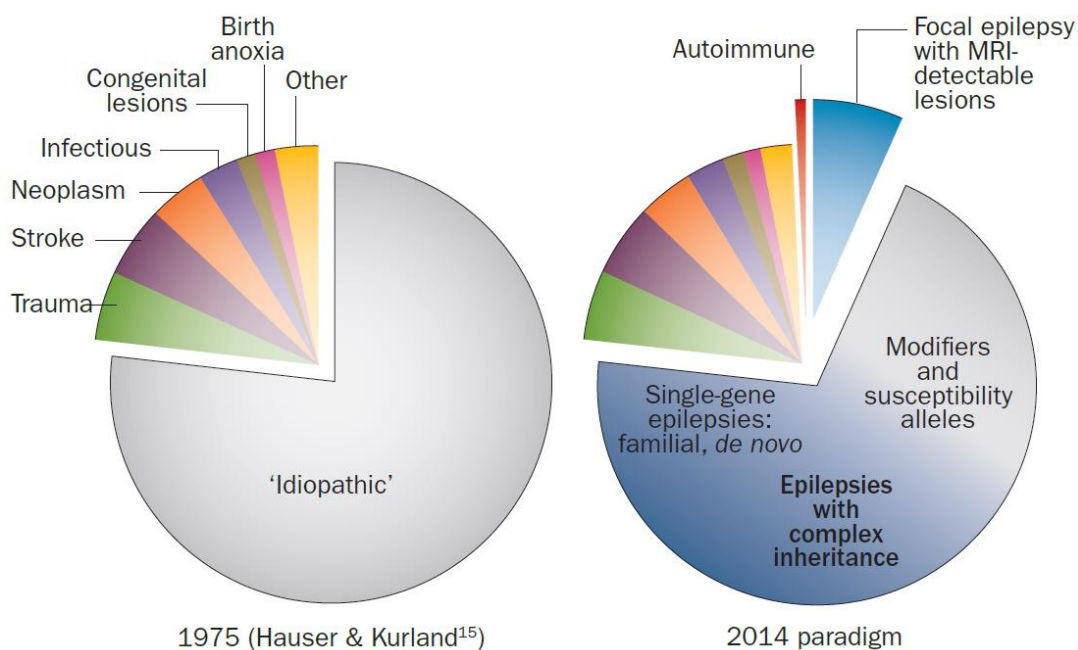
Udeo nasleđa u patogenezi epilepsije je prepoznat još od antičkog perioda i čvrsto je podržan rezultatima familijarnih studija sprovedenih tokom prve polovine XX veka (Lennox, 1951). Uprkos tome, prvi gen povezan sa nastankom epilepsije je otkriven tek 1995. godine. U pitanju je *CHRNA4* gen koji kodira  $\alpha 4$  subjedinicu nikotinskog receptora čija varijanta je opisana u velikoj australijskoj familiji sa ADSHE, retkom familijarnom fokalnom epilepsijom (Steinlein et al., 1995).



Slika 11 Istorija otkrića gena u epilepsiji adaptirano iz Helbig et al., 2016

Od tada do danas je otkriveno više stotina gena uključenih u patogenezu epilepsije. Helbig period otkrića gena u epilepsiji od 1995. godine do danas razdvaja u tri epohe (I. Helbig et al., 2016). Prva je tzv. *Era kanalopatija*, obeležena je otkrićem većeg broja gena za jonske kanale uključenih u patogenezu retkih monogeničkih epileptičkih sindroma (Slika 11). Etabliranje epilepsije kao kanalopatije pokreće lavinu studija asocijacije, uglavnom fokusiranih na gene za jonske kanale, ali i onih u čitavom genomu (eng. *genome wide association studies*, GWAS). Ove studije su nažalost dale uglavnom negativne ili nepreproducibilne rezultate. Otkriće povezanosti mikrodelecija sa epilepsijom pokreće novu *Eru mikrodelecija* koju karakteriše otkriće retkih strukturnih varijanti u genomu kod

obolelih od čestih epileptičkih sindroma. Shvatanje da genske varijante igraju važnu ulogu u etiopatogenezi čestih bolesti, udruženo sa uvođenjem novih metoda u molekularnoj genetici, poput sekvenciranja nove generacije (eng. *Next generation sequencing*, NGS) dovodi do eksplozije otkrića u oblasti genetike epilepsije i označava početak *Ere NGS* koja traje do danas.



Slika 12 Klasična i moderna paradigma etiologije epilepsija, adaptirano iz Thomas and Berkovic, 2014.

NGS je omogućio prikupljanje velike količine podataka uz redukciju troškova. Na primer, sekvenciranje celog egzoma (eng. *whole exome sequencing*, WES) je moguće uz troškove koji su nekad bili potrebni za analizu jednog samo gena. Radi poređenja, prvo kompletno sekvenciranje genoma čoveka pomoću klasičnih metoda je trajalo preko 10 godina i koštalo približno jednu milijardu američkih dolara. Nasuprot tome, uz pomoć današnje tehnologije čitav genom je moguće sekvencirati za nekoliko dana uz materijalni utrošak od oko hiljadu američkih dolara (Bras et al., 2012). Uz otkriće spektra epileptogenih lezija magnetnom rezonancijom i, u manjoj meri, detekciju antineuralnih antitela koja leže u osnovi manje od 10% epilepsija (Brenner et al., 2013), NGS je transformisao etiološku paradigmu epilepsije od one etablirane ročesterskim registrom od strane Hauser-a i Kurland-a, u onu koju imamo danas (Slika 12).

Nova paradigma se ogleda u prepoznavanju činjenice da varijante u brojnim genima, različite pojedinačne *veliĉine efekta*, mogu učestvovati u nastanku epilepsije, a svojim kumulativnim efektom učestvuju u nastanku preko polovine svih epilepsija (Pal et al., 2010). Veliĉina efekta se odnosi na verovatnoću pojave bolesti kod osobe koja je nosilac određene genske varijante. U tom smislu se na jednoj strani spektra nalaze *kauzalni geni* i varijante velike veliĉine efekta, koje dovode do monogenskih epilepsija ili bolesti udruženih sa epilepsijom, a na drugoj veliki broj varijanti i gena male veliĉine efekta, tj. sa malim uticajem na nastanak epilepsije uz veliki upliv epistatiĉkih, epigenetskih i sredinskih faktora (Shorvon et al., 2019). Više o ovoj temi u odeljku 1.6.3.2

Wang i sar. su sistematizovali sve poznate gene uključene u patogenezu epilepsije do 2017. godine (J. Wang et al., 2017). Pregledom internet baza podataka (Online Mendelian Inheritance in Man database – OMIM, Human Gene Mutation Database – HGMD i EpilepsyGene database) su izdvojili 935 gena koje su razvrstali u 4 grupe.

Tabela 5 Klasifikacija epileptičkih gena prema funkciji genskog produkta i sindromi sa kojima su povezani u OMIM\*, adaptirano iz J. Wang et al., 2017

Funkcija kodiranog proteina		Gen (fenotip)
Jonski kanali	Voltažno zavisni natrijumski kanali	<i>SCN1A</i> (DS/GEFS+/FFS, FMTLE), <i>SCN1B</i> (GEFS+), <i>SCN2A</i> (EIDEE/SeLNE), <i>SCN8A</i> (EIDEE/SeLIE), <i>SCN9A</i> (GEFS+/DS/FFS)
	Voltažno zavisni kalijumski kanali	<i>KCNA2</i> (EIDEE), <i>KCNB1</i> (EIDEE), <i>KCNC1</i> (PME), <i>KCNMA1</i> (PDE), <i>KCNQ2</i> (EIDEE/SeLNE), <i>KCNQ3</i> (SeLNE), <i>KCNT1</i> (ADSHE/EIDEE)
	HCN kanali	<i>HCN1</i> (EIDEE)
	Voltažno zavisni kalcijumski kanali	<i>CACNA1H</i> (CAE/GGE), <i>CACNB4</i> (GGE/JME)
	Voltažno zavisni hloridni kanali	<i>CLCN2*</i> (GGE/JAE/JME)
	GABA <sub>A</sub> receptor	<i>GABRA1</i> (EIDEE/CAE/JME), <i>GABRB3</i> (CAE), <i>GABRD</i> (GEFS+/GGE/JME), <i>GABRG2</i> (GEFS+/FFS/CAE)
	NMDA receptor	<i>GRIN2A</i> (FESD), <i>GRIN2B</i> (EIDEE), <i>GRIN2D</i> (EIDEE)
	Acetilholinski receptor	<i>CHRNA2</i> (ADSHE), <i>CHRNA4</i> (ADSHE), <i>CHRN2</i> (ADSHE)
Enzimi i enzimski modulatori	Enzimi	<i>AARS</i> (EIDEE), <i>ALDH7A1</i> (PDE), <i>ALG13</i> (EIDEE), <i>CDKL5</i> (EIDEE), <i>CERS1</i> (PME), <i>CHD2</i> (COEE), <i>CPA6</i> (ADEAF/FFS), <i>DNM1</i> (EIDEE), <i>EPM2A</i> (PME), <i>GNAO1</i> (EIDEE), <i>GUF1</i> (EIDEE), <i>ITPA</i> (EIDEE), <i>NHLRC1</i> (PME), <i>PLCB1</i> (EIDEE), <i>PNPO</i> (PNPOD), <i>PRDM8</i> (pTabela 5ME), <i>SIK1</i> (EIDEE), <i>ST3GAL3</i> (EIDEE), <i>ST3GAL5</i> (AIES), <i>WWOX</i> (EIDEE)
	Enzimski modulatori	<i>ARHGEF9</i> (EIDEE), <i>CSTB</i> (PME), <i>DOCK7</i> (EIDEE), <i>TBC1D24</i> (EIDEE/FIME)
Transporteri i receptori	Transporteri	<i>SLC12A5</i> (EIDEE/GGE), <i>SLC13A5</i> (EIDEE), <i>SLC25A12</i> (EIDEE), <i>SLC25A22</i> (EIDEE), <i>SLC2A1</i> (GGE), <i>SLC6A1</i> (MAE)
	Receptori	<i>ADRA2B</i> (FAME), <i>CASR</i> (GGE), <i>FRRS1L</i> (EIDEE), <i>GPR98</i> (FFS), <i>SCARB2</i> (PME)
Ćelijski adhezioni proteini		<i>CNTN2</i> (FAME), <i>PCDH19</i> (EIDEE)
Prenosioci signala		<i>EFHC1</i> (JAE/JME)
Membranski transport		<i>GOSR2</i> (PME), <i>STX1B</i> (GEFS+), <i>STXBP1</i> (EIDEE)
Citoskeletni proteini		<i>LMNB2</i> (PME), <i>SPTAN1</i> (EIDEE)
Vezivanje za nukleinske kiseline		<i>EEF1A2</i> (EIDEE), <i>GUF1</i> (EIDEE)
Neklasifikovani		<i>ARV1</i> (EIDEE), <i>DEPDC5</i> (FFEVF, ADSHE, FMTLE), <i>GAL</i> (ADEAF), <i>KCTD7</i> (PME), <i>LGII</i> (ADEAF), <i>NECAP1</i> (EIDEE), <i>PRICKLE1</i> (PME), <i>PRRT2</i> (SeLIE), <i>SZT2</i> (EIDEE), <i>NPRL2</i> (FFEVF), <i>NPRL3</i> (FFEVF)

AIES – sindrom infantilne epilepsije kod Amiša (eng. Amish infantile epilepsy syndrome), SeLNE – samoograničena neonatalna/infantilna epilepsija (eng. self-limited neonatal/infantile epilepsy), SeLNE – samoograničena neonatalna epilepsija (eng. self-limited neonatal epilepsy); SeLIE – samoograničena infantilna epilepsija (eng. self-limited infantile epilepsy); ADSHE – autozomno dominantna hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem, (eng. autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy), CAE – dečja apsansna epilepsija (eng. childhood absans epilepsy); COEE – epileptička encefalopatija sa početkom u detinjstvu, (eng. childhood-onset epileptic encephalopathy), DS – Dravet sindrom; EIDEE – rana infantilna razvojna i epileptička encefalopatija (eng. early infantile developmental and epileptic encephalopathy), PDE – epilepsija zavisna od piridoksina (eng. pyridoxine-dependent epilepsy); FAME – familijarna adultna mioklonička epilepsija (eng. familial adult myoclonic epilepsy), ADRESD – autozomno dominantna epilepsija sa dispraksijom govora (eng. autosomal dominant rolandic epilepsy with speech dyspraxia); FFEVF – familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima (eng. familial focal epilepsy with variable foci), FFS – familijarni febrilni napadi (eng. familial febrile seizures), FIME – familijarna infantilna mioklonička epilepsija; ADEAF – autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima, GEFS+ – genetska epilepsija sa febrilnim napadima plus (eng. genetic epilepsy with febrile seizures plus), GEPD – generalizovana epilepsija sa paroksizmalnim diskinezijama (eng. generalized epilepsy and paroxysmal dyskinesia), GGE – genetska generalizovana epilepsija, JAE - juvenilna apsansna epilepsija, JME – juvenilna mioklonička epilepsija, MAE – mioklonička atonička epilepsija, PME, progresivna mioklonička epilepsija, PNPOD - deficijencija oksidaze piridoksamin 5'-fosfata (eng. pyridoxamine 5'-phosphate oxidase deficiency); \*nazivi fenotipa su usklađeni sa ILAE klasifikacijom epileptičkih sindroma iz 2022; geni uključeni u našu studiju su obeleženi **bold** slovima

Prvu grupu od 79 gena su činili *geni neposredno odgovorni za epilepsiju*. U nju su uvršćeni geni sa čvrstom kauzalnom vezom sa sindromski čistom epilepsijom, odnosno sindromima u kojima je epilepsija dominantni simptom. Među ovim genima se nalaze i geni povezani sa više različitih fenotipova, među kojima mogu biti i oni bez epilepsije, ali je svaki od njih uključen u patogenezu

barem jednog čistog epileptičkog sindroma. Varijante u ovim genima dovode do 23 tzv. *monogenska epileptička fenotipa*, među kojima je za 14 za sada identifikovano više kauzalnih gena. Za varijante u ovim genima pokazani su različiti nasledni obrasci koji mogu poštovati pravila tzv. *mendelske genetike*, nasleđivati se po nedefinisanim obrascima ili predstavljati *de novo* varijante, koje su naročito česte u slučaju razvojnih i/ili epileptičkih encefalopatija (eng. *developmental and/or epileptic encephalopathy*, D/EE) i drugih teških epileptičkih sindroma.

Radi boljeg razumevanja molekuskog mehanizma nastanka ovih oboljenja autori su klasifikovali ove gene prema funkciji genskog produkta (Tabela 5). Najčešći među ovim genima su geni koji kodiraju jonske kanale (26/79), a potom enzime ili enzimske modulatore (24/79) koji su češće bili povezani sa teškim formama epilepsije. Od 79 gena, 16 je bilo povezano sa više fenotipova.

U drugu grupu od 73 gena su svrstani tzv. *neurorazvojni geni za epilepsiju*, čije varijante dovode do poremećaja moždanog razvoja različite težine. U ovu grupu spadaju geni kao npr. *TSC1* i *TSC2*, izazivači kompleksa tuberozne skleroze. Geni koji kodiraju enzime i enzimske modulatore su činili 24/73 gena u ovoj grupi, a drugi po učestalosti su bili geni koji kodiraju citoskeletne molekule (15/73), dok us preostali geni uključeni u ćelijsku adheziju, ekstracelularni matriks, membransku strukturu i transport ili su im funkcije nepoznate. U ovoj grupi nisu identifikovani geni koji kodiraju jonske kanale.

U treću grupu od 536 gena je svrstano 536 *gena povezanih sa epilepsijom* među kojima su geni čije varijante dovode do sistemskih poremećaja koji mogu biti praćeni epilepsijom kao što je npr. *FMR1* gen čiji defekt dovodi do sindroma fragilnog X. U poslednjoj, četvrtoj, grupi je izdvojeno 247 gena koji su potencijalno povezani sa epilepsijom koji u trenutku publikacije nisu bili prisutni u OMIM bazi. Kauzalna veza mnogih među njima sa epilepsijom je u međuvremenu potvrđena, kao što su npr. *NPRL2* i *NPRL3* (Dawson et al., 2020).

Veliki dijagnostički, terapijski i prognostički potencijal leži u boljem razumevanju genetskih determinanti epilepsije. Zbog toga je izučavanje mehanizma epileptogeneze, fenotipsko-genotipskih korelacija kao i kauzalnog uticaja genetske osnove u epilepsijama u žiži interesovanja epileptološke naučne zajednice poslednjih decenija. Detaljniji pregled do sada prikupljenih znanja o genetici fokalnih epilepsija je dat u narednim poglavljima.

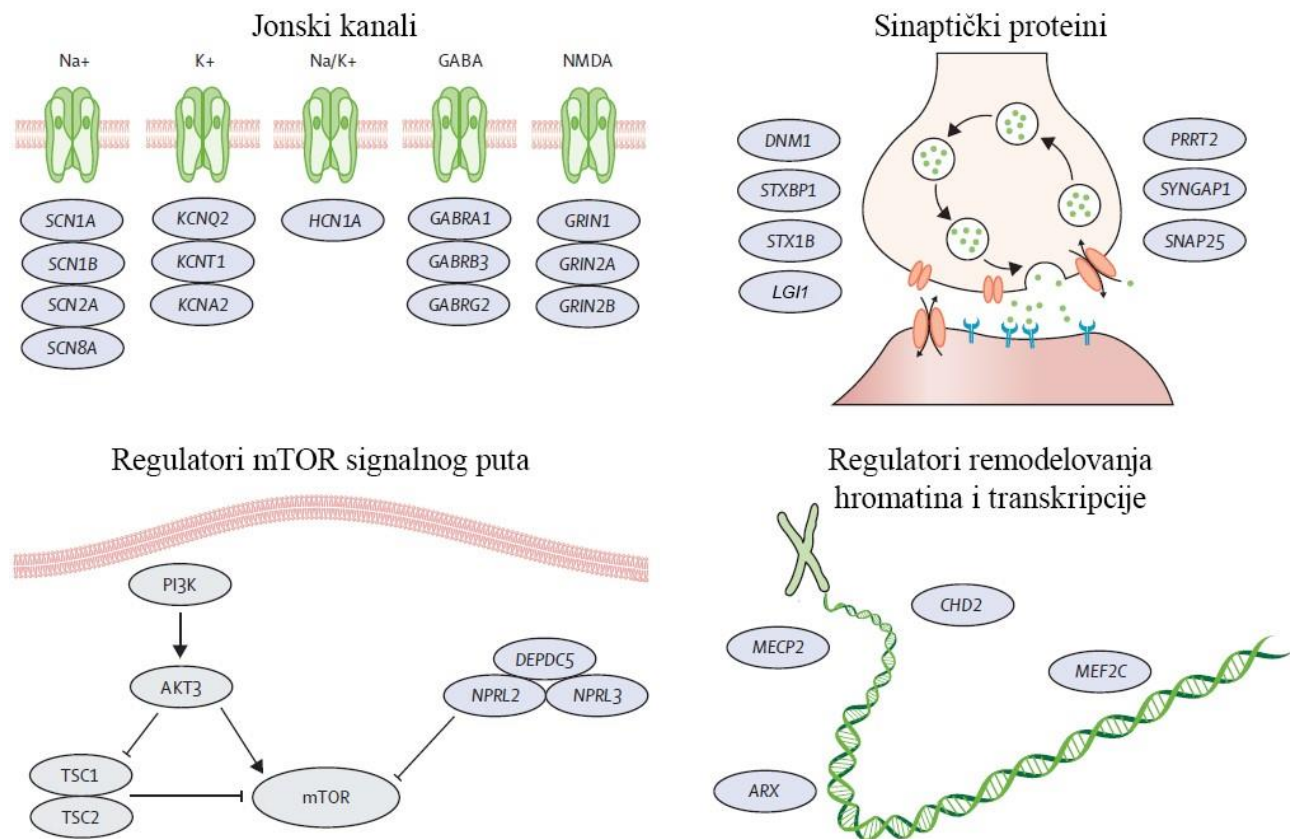
#### **1.4 Mehanizmi epileptogeneze u genski uslovljenim epilepsijama**

Razvoj hronične epilepsije podrazumeva kaskadu događaja pokrenutu inicijalnim etiološkim faktorom koji može biti lezija mozga poput traume kod stečenih ili nasleđena genska varijanta kod nestečenih epilepsija. Iz eksperimentalnih studija na životinjskim modelima (Pitkänen et al., 2017), kao i iz kliničkih studija na ljudskoj populaciji (Klein et al., 2018), poznato je da postoji latentni period između događaja koji pokreće proces epileptogeneze i pojave epilepsije kao hronične bolesti. Tokom ovog perioda dolazi do gubitka neurona i abnormalne sinaptičke reorganizacije što neizostavno dovodi do abnormalnog povećanja ekscitabilnosti i sinhronizacije aktivnosti u pojedinim strukturama mozga (Vojvodić, 2014). Epileptogeneza se stoga može posmatrati kao aktivan proces koji kao posledicu daje kako iktalne fenomene, tako i trajne funkcionalne i strukturne promene u mozgu. Postojanje latentnog perioda pre pojave epileptičkih napada predstavlja terapijski prozor u kome se dejstvom specifičnih mehanizmom vođenih molekula može sprečiti razvoj epilepsije i udruženih poremećaja (Vojvodić, 2014).

Geni direktno odgovorni za epilepsiju i njihovi produkti su uključeni u raznovrsne ćelijske i tkivne procese (Slika 13, Tabela 5). Među njima najveću funkcionalnu grupu čine geni koji kodiraju ligand ili voltažno zavisne jonske kanale. Varijante u genima za jonske kanale su prvi put opisane u monogenskim sindromima fokalne epilepsije, kao što je ADSHE ili samoograničena neonatalna epilepsija (eng. *self-limited neonatal epilepsy*, SeLNE), ali potom i u porodicama sa GGE kao i *de*

*novo* varijante u D/EE. Među genima iz ove grupe koji ne kodiraju jonske kanale su oni čiji genski produkti verovatno regulišu funkciju jonskih kanala, kao što je *LGII*, ali i oni uključeni u potpuno drugačije ćelijske funkcije kao što je ćelijska adhezija i neuralni razvoj poput *PCDH19* ili regulacija ćelijskog rasta i proliferacije, kao što su regulatori mTOR signalnog puta.

U ovom poglavlju će biti reči o opštim funkcionalnim mehanizmima različitih tipova genskih varijanti, a detaljnije će biti opisane molekularni mehanizmi epileptogeneze uslovljene varijantama u genima za jonske kanale i regulatore mTOR signalnog puta, koji su najčešći mehanizmi epileptogeneze u genetskim fokalnim epilepsijama.



Slika 13 Funkcija proteinskih produkata nekih epileptičkih gena, adaptirano iz Ellis et al., 2020.

#### 1.4.1 Funkcionalni efekti genskih varijanti

##### 1.4.1.1 Klasifikacija funkcionalnih tipova genskih varijanti

*Gen* je definisan kao osnovna nasledna jedinica i definiše se kao deo DNK koji nosi informaciju za funkcionalni polipeptid ili molekul RNK. Protein kodirajući geni se sastoje od kodirajućih sekvenci (*egzona*) i nekodirajućih sekvenci (*intron*). *Genom* podrazumeva kompletan genetski materijal jedne jedinke ili vrste dok je skup isključivo kodirajućih sekvenci *egzom* i on sačinjava manje od 2% genoma čoveka.

*Genska varijanta* označava u DNK, odnosno genu, u odnosu na referentnu sekvencu. Tip genske varijante predstavlja prvu informaciju neophodnu za razumevanje mehanizama epileptogeneze u genetski uslovljenim epilepsijama. Varijante u genu dovode do izmene finalnog genskog produkta (RNK ili proteina) koja se u funkcionalnom smislu može manifestovati povećanjem postojeće ili pojavom potpuno nove funkcije (tzv. eng. *gain of function* (GOF) varijante) ili, sa druge strane, redukcije ili gubitka njegove funkcije (tzv. eng. *loss of function* (LOF) varijante).

Međutim, varijante mogu biti i funkcionalno neme. Obim disfunkcije je određen molekularnim tipom i veličinom varijante kao i funkcijom proteinskog domena koji je njom zahvaćen.

Varijante koje dovode do grubljeg narušavanja proteinske strukture dovode do težih funkcionalnih izmena ili čak potpunog gubitka proteinskog produkta (tzv. eng. *null varijante* ili varijante koje dovode do skraćanja proteina). Takve su npr. delecije egzona ili čitavih gena, *nonsense varijante* koje dovode do prevremenog stop kodona, varijante koje dovode do promene okvira čitanja (tzv. *frameshift varijante*) koje su obično praćene i nastankom prevremenog stop kodona, ili one koje zahvataju regione koji uređuju postranskripcionu obradu RNK, odnosno mesta splajsovanja (tzv. *splice-site varijante*) (Boillot and Baulac, 2016). Supstitucije pojedinačnih nukleotida ili male insercije, duplikacije ili delecije koje ne dovode do promena okvira čitanja mogu imati varijabilan funkcionalni efekat koji je nekada teško proceniti, ali je tipično blaži nego kod *null* varijanti.

Većina genetski determinisanih epilepsija se nasleđuju kao autozomno ili X vezana dominantna oboljenja. Izmenjeni fenotip kod GOF varijanti je posledica prisustva patološke funkcije, dok je kod LOF varijanti njegov mehanizam nastanka složeniji. Neke dominantne varijante dovode do tzv. *dominantnog negativnog efekta* u kome prisustvo izmenjenog genskog produkta dovodi do disfunkcije drugog neizmenjenog alela. Drugi mogući mehanizam je *haploinsuficijencija*, najčešći kod *null* varijanti u kojima polovina prisutnog genskog produkta nije dovoljna za normalnu ćelijsku funkciju (Johnson et al., 2019; Veitia et al., 2018).

#### 1.4.1.2 Metode ispitivanja funkcionalnih konsekvenci genskih varijanti

##### 1.4.1.2.1 *In vitro* sistemi

Funkcionalna posledica genske varijante po finalni genski produkt, najčešće protein, se često ne može teorijski predvideti. Zbog toga su *in vitro* sistemi neophodni za procenu prisustva proteinskog produkta kao i njegove funkcionalnosti. Za funkcionalno ispitivanje jonskih kanala se mogu koristiti heterologi ekspresioni sistemi poput oocite afričke kandžaste žabe, *Xenopus laevis*-a, ili ćelijske kulture sisara iz tkiva izvan nervnog sistema, poput humanih embrionalnih bubrežnih ćelija. Ovakvi sistemi obično dozvoljavaju razlikovanje neutralnih varijanti od onih koje dovode do disfunkcije proteina. Međutim, njihov važan nedostatak je u odsustvu formiranja sinaptičkih veza zbog čega ne dozvoljavaju procenu sinaptičke disfunkcije (Mantegazza et al., 2010).

Neuronalni sistemi, bilo kultura ćelijskih linija ili primarnih neuronalnih kultura eksperimentalnih životinja omogućavaju ispitivanje izmene genske ekspresije, preraspoređivanja ćelija i ugrađivanja proteina i njihove sposobnosti vezivanja za relevantne molekule. Problem njihove upotrebe su tehnička ograničenja kao što je mala vijabilnost primarnih kultura, ali i otežana interpretacija dobijenih funkcionalnih rezultata. Šta više, endogeni proteini ulaze u interakcije sa ispitivanim proteinom i mogu maskirati njegove efekte, a nezreli, pogotovu embrionalni neuroni, se mogu drugačije ponašati u odnosu na zrele ćelije kod pacijenata. (Mantegazza et al., 2010). Posebno interesantna opcija su neuronske kulture dobijene indukcijom pluripotentnih ćelija poreklom od fibroblasta kože pacijenata, koje omogućavaju funkcionalno ispitivanje specifične genske konstelacije kod pojedinačnih pacijenta (Mantegazza et al., 2010). Iako su neuronalni i heterologi sistemi važni instrumenti za bazičnu ocenu funkcionalne alteracije izmenjenih proteina, oni ne pružaju mogućnost ispitivanja citoarhitektonskih karakteristika tkiva kao ni izmene organizacije neuralnih mreža, koji su verovatno presudni mehanizmi epileptogeneze (Boillot and Baulac, 2016).

##### 1.4.1.2.2 *In vivo* i *ex vivo* sistemi

Genetski modifikovani *in vivo* animalni modeli omogućavaju sagledavanje širih funkcionalnih efekata varijanti i validaciju fenotipskih karakteristika opserviranih kod pacijenata. Najčešće eksperimentalne životinje korišćene u modelima epilepsije su miševi, ali se često koriste i

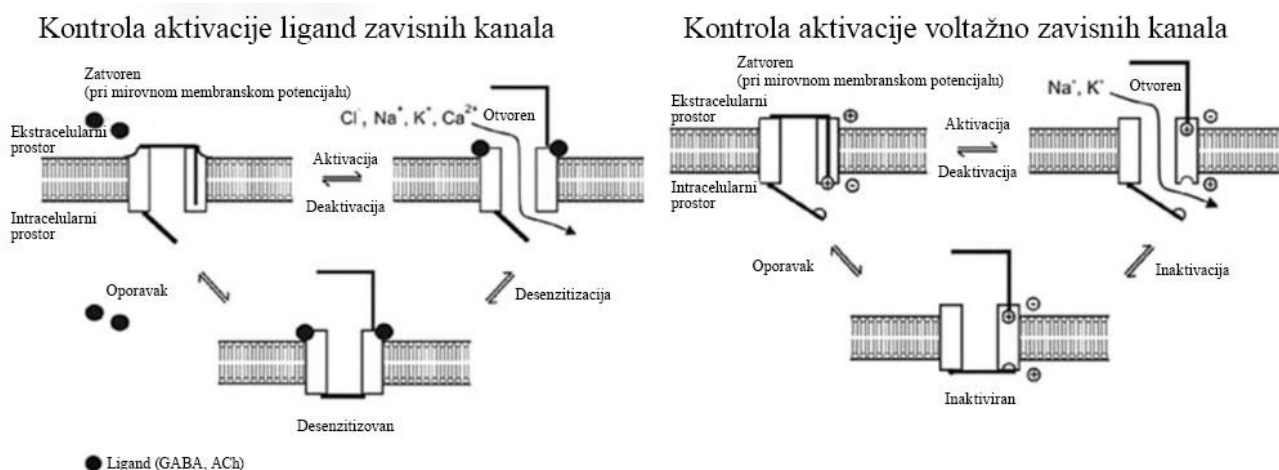
plave zebrice i pacovi. U *knock-out* modelima je ciljani gen u potpunosti onesposobljen čime se oponašaju potpune LOF varijante. Ovi modeli su korisni za evaluaciju *null* varijanti kao što su *nonsense*, *frameshift* ili *splice-site* varijante. Kod konstitutivnih *knock-out* modela gen je trajno inaktiviran u svim tkivima eksperimentalne životinje. Nasuprot tome, kod uslovnih *knock-out* životinja inaktivacija gena se dešava samo u selektovanim tkivima ili u vremenskim zavisnom okviru, što omogućava evaluaciju varijanti koje su kod eksperimentalne životinje inkompatibilne sa životom. Kod *knock-in* modela, endogeni genski alel je zamenjen verijantnim alelom čime je moguće ispitati efekte *missense* varijanti, što je naročito važno za ispitivanje GOF varijanti (Grone and Baraban, 2015). Heterozigotni *knock-in* modeli omogućavaju ispitivanje i mehanizama dominantnog nasleđivanja poput haploinsuficijencije ili dominantno-negativnog efekta (Guerrini et al., 2014). Ranije su za ispitivanje GOF varijanti korišćeni transgeni modeli sa povećanom ekspresijom kod kojih je više kopija ispitivanog gena ubačeno u genom životinje, ali su oni u najvećoj meri zamenjeni *knock-in* modelima čiji efekti su bliži fiziološkim (Grone and Baraban, 2015).

*Ex vivo* preparati se mogu dobiti iz eksperimentalnih životinja ili humanog materijala, obično od pacijenata podvrgnutih hirurškom lečenju epilepsije. *Ex vivo* preparati su posebno korisni za razumevanje molekularnih, kao i histoloških karakteristika neuralnih alteracija kod nekih monogenskih epilepsija poput mTORopatija (Mantegazza et al., 2010).

## 1.4.2 Epileptogeneza usled disfunkcije jonskih kanala

### 1.4.2.1 Struktura jonskih kanala i regulacija ekscitabilnosti neuronalne membrane

Hiperkescitabilnost i hipersinhronija su osnovne odlike epileptogeno izmenjenog tkiva, te nije iznenađujuće da u nastanku epilepsije jonski kanali koji regulišu neuronalnu ekscitabilnost igraju važnu ulogu u njenom nastanku. Voltažno zavisni jonski kanali su proteinski polimeri sa centralnom porom koju gradi glavna,  $\alpha$  subjedinica, dok pomoćne subjedinice ( $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ ) modulišu funkciju kanala. Funkcionalni kanal nastaje međusobnom agregacijom proteinskih subjedinica koje grade različite homo i hetero oligomere.

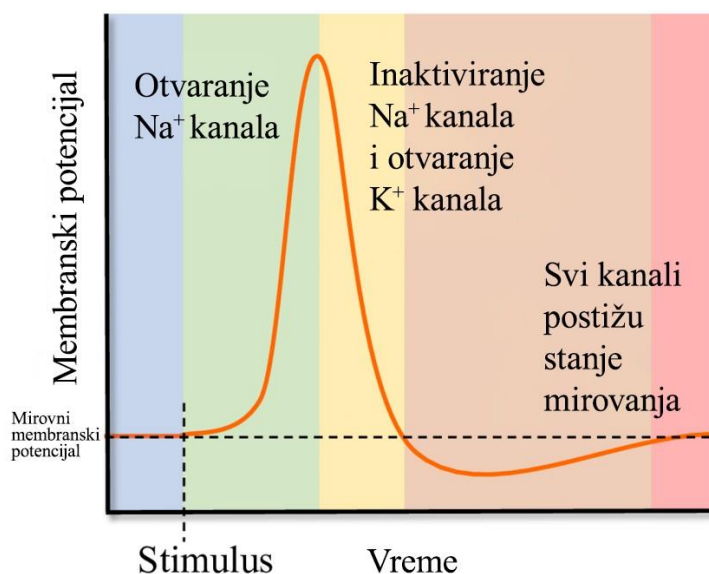


Slika 14 Shematski prikaz različitih konformacionih stanja jonskih kanala, adaptirano iz Maljevic and Lerche.,2019

Natrijumski kanali se mogu naći u jednom od 3 konformaciona stanja – *zatvorenom*, *otvorenom* i *inaktiviranom stanju* (Slika 14). Kanali su u stanju mirovnog membranskog potencijala zatvoreni pomoću tzv. *aktivacionih vratanaca* koja se otvaraju prilikom membranske depolarizacije. Otvaranje kanala omogućava influks natrijumskih jona iz ekstracelularnog u intracelularni prostor što je odgovorno za strmi ushodni krak akcionih potencijala (AP) (Slika 15). Natrijumski kanali ostaju otvoreni nekoliko milisekundi, nakon čega usled održavanja depolarizacije membrane dolazi do zatvaranja *inaktivacionih vratanaca* čime kanal ulazi u *inaktivirano stanje*. Inaktivirani kanal je



zatvoren do postizanja potpune i održane repolarizacije membrane. Tokom ovog perioda kanal je refraktaran na ponovnu depolarizaciju membrane.

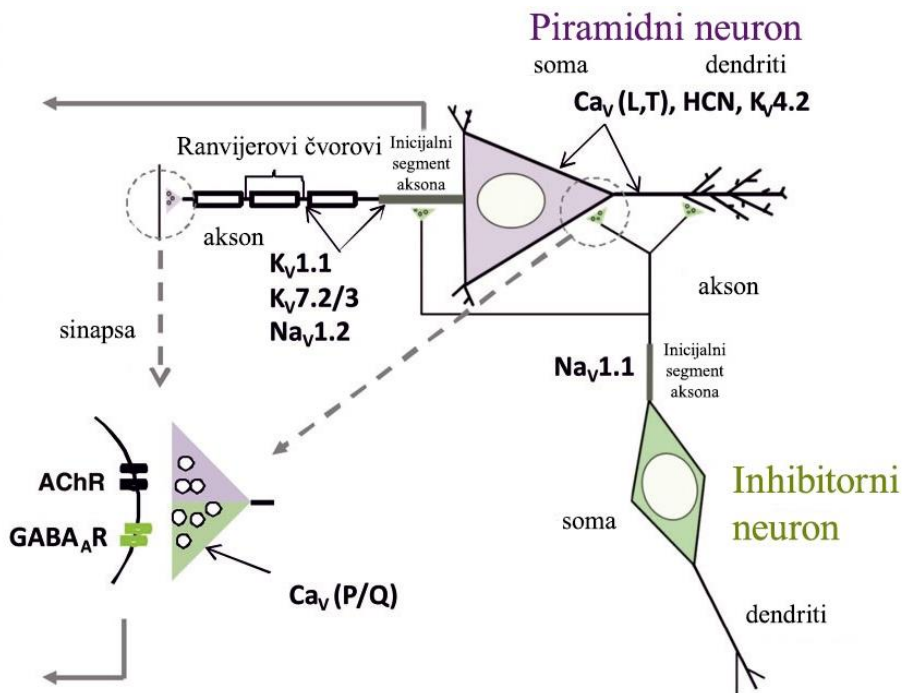


Slika 15 Shematski prikaz akcionog potencijala, adaptirano iz Verma et al., 2019.

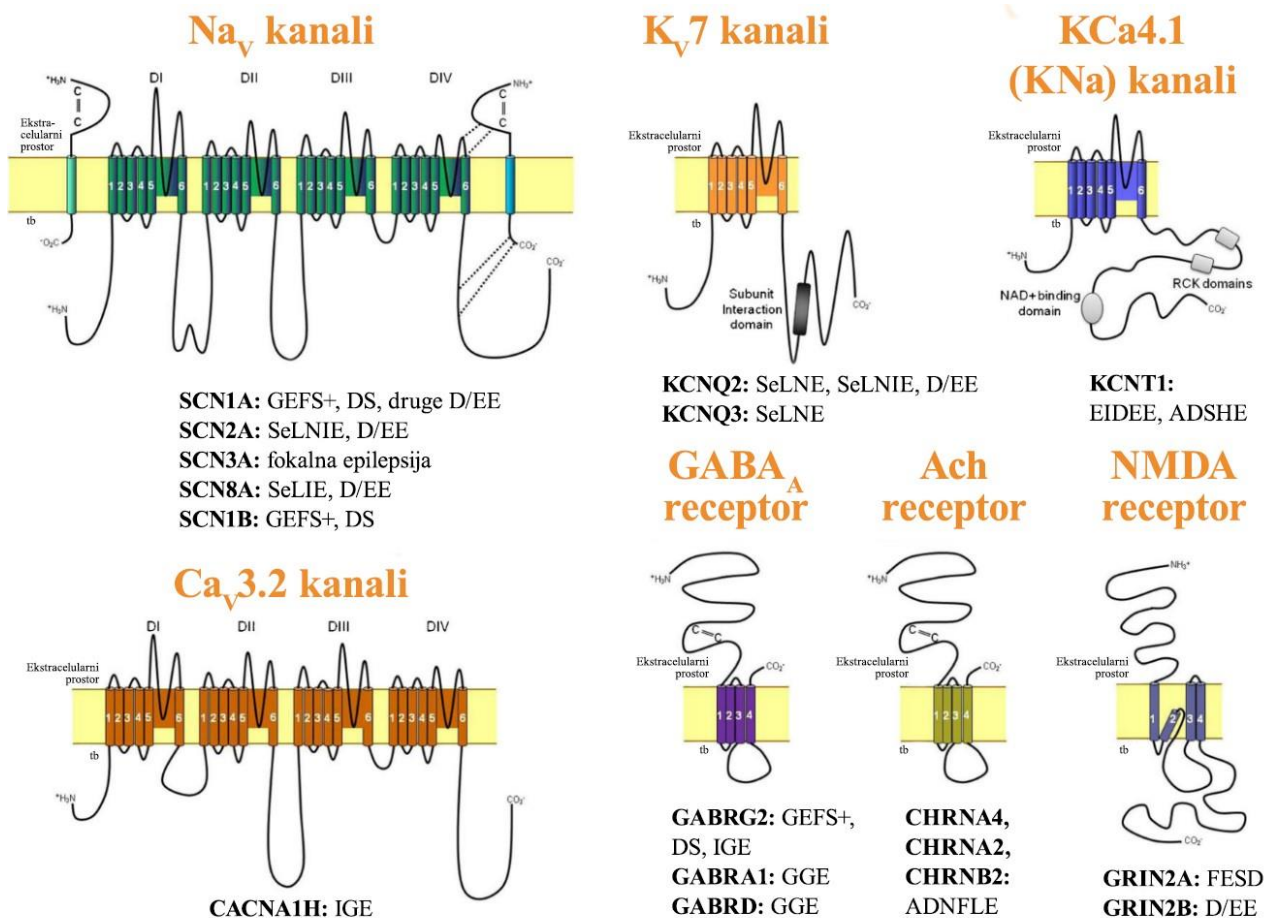
Kalijumski kanali nemaju inaktivaciona vrata i konstituciono se otvaraju depolarizacijom. Kalijumska struja iz intracelularnog ka ekstracelularnom prostoru dovodi do repolarizacije, a potom i hiperpolarizacije membrane. U ovom stanju i natrijumski i kalijumski kanali bivaju prevedeni iz inaktiviranog u zatvoreno stanje. Poremećaj inaktivacije natrijumskih ili disfunkcija kalijumskih kanala dovodi do protrahovane depolarizacije membrane što posledično dovodi do okidanja serije AP i neuronalne hiperekscitabilnosti (Verma et al., 2019).

Ligand zavisni jonski kanali su u stvari jonotropni neurotransmiterski receptori. Slično drugim receptorima, mehanizam signalne transmisije je zasnovan na konformacionim promenama koje nastupaju po vezivanju liganda koje prevodi kanal iz *zatvorenog* u *otvoreno stanje* (Slika 15). U slučaju prolongiranog prisustva liganda, kanal ulazi u *desenzitizovano stanje* u kome je zatvoren do njegovog uklanjanja, što dovodi do *deaktivacije* kanala i prevodi ga u *zatvoreno stanje*. Po analogiji, poremećaj desenzitizacije kao i deaktivacije može uvesti neuron u hiperekscitabilno stanje (Maljevic and Lerche, 2019).

Molekularna raznolikost proteinskih subjedinica i njihove različite oligomerske kombinacije dovode do velike heterogenosti jonskih kanala. Zbog toga varijante u genima za subjedinice različite tkivne specifičnosti daju širok spektar kliničkih fenotipova u okviru kojih se najčešće javljaju miotonija, srčane aritmije, gluvoća ili epilepsija. Šta više, klinički efekat varijante je determinisan i distribucijom proteinskih subjedinica u različitim moždanim strukturama, neuronalnim ili glijalnim ćelijama, ćelijskim kompartmanima, kao i razvojnim periodom njegove ekspresije (Slika 16) (Lerche et al., 2013). Zbog toga varijante u jonskim kanalima se mogu klinički manifestovati različitim fenotipovima često vezanim za specifični razvojni period (detaljnije u Poglavlju 1.5.1). Pregled najčešćih gena za jonske kanale uključenih u patogenezu epilepsije je dat na Slika 17.



Slika 16 Neuronalna lokalizacija voltažno i ligand zavisnih jonskih kanala, adaptirano iz Lerche et al., 2013.



Slika 17 Pregled gena za jonske kanale i epileptičkih sindroma sa kojima su povezani, adaptirano iz Guerrini et al., 2014.

### 1.4.2.2 Epileptogeneza u natrijumskim kanalopatijama

Centralna pora voltažno zavisnih natrijumskih kanala (Nav) se sastoji od tetramera  $\alpha$  subjedinica sa četiri homologna regiona od kojih svaka ima šest transmembranskih segmenata. Postoji devet različitih gena koji kodiraju različite  $\alpha$  subjedinice voltažno zavisnih natrijumskih kanala (*SCN1A-SCN11A*, *SCN6A* i *SCN7A* označavaju isti gen koji kodira natrijumski kanal koji nije voltažno zavisan), od kojih je četiri eksprimirano u moždanom tkivu (Tabela 6).

Tabela 6 Subcelularna distribucija subjedinica natrijumskih voltažno zavisnih kanala u mozgu

Gen	Kanal	Predominantna lokalizacija	Uzrast
<i>SCN1A</i>	Nav1.1	Soma, proksimalni dendriti, inicijalni segment inhibitornih interneurona	Prisutni po rođenju, broj raste do adultnog doba
<i>SCN2A</i>	Nav1.2	Dendriti i nemijelinizovani aksoni	Prisutni tokom embrionalnog razvoja, broj raste do adultnog doba
<i>SCN3A</i>	Nav1.3	Soma i proksimalni dendriti	Prisutni tokom embrionalnog razvoja, raste do rođenja, potom opada
<i>SCN8A</i>	Nav1.6	Ranvijerovi čvorovi, inicijalni segment, pre- i postsinaptičke membrane, dendriti, soma	Prisutni tokom kasnog embrionalnog perioda, broj raste do adultnog doba

Ovi proteini pripadaju Nav1 subfamiliji i imaju široku i heterogenu distribuciju u moždanim neuronima i glijama zbog čega su uključeni u različite faze neuronalne transmisije. Četiri dodatna gena kodiraju pomoćne  $\beta$  subjedinice koje učestvuju u modulaciji. (Vacher et al., 2008).

#### 1.4.2.2.1 Epileptogeneza kod varijanti u *SCN1A* genu

*SCN1A* gen kodira  $\alpha$  subjedinicu Nav1.1 kanala. Varijante u ovom genu su najčešće opisane kod genetske epilepsije sa febrilnim napadima plus (eng. *genetic epilepsy with febrile seizures plus*, GEFS+) (Cossette et al., 2003), Dravet sindromu (DS) (C. Depienne et al., 2009; Marini et al., 2009), ali i fokalnoj epilepsiji koja može biti udružena sa hipokampalnom sklerozom (Kasperaviciute et al., 2013). *SCN1A* varijante su detektovane kod približno 10% pacijenata sa GEFS+, i čak 85% pacijenata sa DS (Lossin, 2009). Većina varijanti opisanih kod GEFS+ fenotipa su *missense* tipa koje dovode do funkcionalnih promena ali ne i potpunog gubitak funkcije Nav1.1 kanala. Najveći broj slučajeva GEFS+ se nasleđuje po kompleksnom obrascu, mada je kod manjeg broja opisano i autozomno dominantno nasleđivanje sa nepotpunom penetrantnošću i varijabilnim fenotipom u okviru zahvaćene familije. Sem toga, opisani su i sporadični slučajevi sa *de novo* varijantama koje karakteriše varijabilna fenotipska ekspresija čak i kod istih varijanti. Ovo sugeriše postojanje značajnog upliva velikog broja modifikujućih gena. Nasuprot tome, najveći broj DS se javlja sporadično usled *de novo null* varijanti koje dovode do skraćenja proteina, ali i *missense* varijante, kao i delecije jednog ili više egzona (Lossin, 2009).

Patogene varijante u *SCN1A* genu povezane sa klasičnim epileptičkim fenotipom za posledicu tipično imaju LOF. *In vitro* modeli su pokazali viši pragovni potencijal za aktivaciju, duže trajanje inaktivacije i niže struje, što sugeriše redukovanu ekscitabilnost (Barela et al., 2006). Šta više, DS je često povezan sa *null* varijantama Nav1.1 kanala (Madia et al., 2006; Suls et al., 2006). Yu i sar su kod heterozigota *Scn1a knock-out* miša koji oponaša LOF varijante pokazali epileptiformnu interiktalnu aktivnost, spontane epileptičke napade kao i snižen prag za napade uzrokovane hipertermijom (Yu et al., 2006). Homozigoti su bili izraženo ataksični i umirali su do 15. dana po rođenju. Elektrofiziološka ispitivanja ekscitatornih hipokampalnih piramidnih neurona nisu pokazale izmene natrijumskih struja, ali je pokazana značajna redukcija natrijumskih struja u GABA-ergičkim hipokampalnim interneuronima kao i Purkinjeovim neuronima cerebeluma (Kalume et al., 2007). Verovatno je disfunkcija GABA-ergičkih interneurona presudna za nastanak epilepsije dok je disfunkcija Purkinjeovih neurona odgovorna za ataksiju tipičnu za homozigotne miševe. Interesantno je spomenuti da je kod ovih miševa pokazano i kompenzatorno povećanje ekspresije Nav1.3

embrionalnih kanala, koje je za sada nerazjašnjenog značaja. Sličan poremećaj inhibicije su pokazali i Ogiwara i saradnici u drugom animalnom modelu DS, upotrebom *knock-in* miša sa *SCN1A nonsense* varijantom (Ogiwara et al., 2007). Heterozigotni miševi su klinički imali epileptičke napade, a patohistološki je pokazana redukcija Nav1.1 kanala u inicijalnom segmentu parvalbumin pozitivnih inhibitornih neokortikalnih interneurona, dok piramidni neuroni nisu bili funkcionalno izmenjeni. U *knock-in* mišu sa *missense* varijantama, identifikovanom kod obolelih od GEFS+, pokazana je presinaptička dezinhibicija uzrokovana disfunkcijom GABA-ergičkih interneurona (Hedrich et al., 2014). Sveukupno uzevši, rezultati dosadašnjih studija pokazuju da Nav1.1 kanal dominantno reguliše ekscitabilnost inhibitornih interneurona, te da je klinička slika *SCN1A* varijanti posledica selektivnog gubitka inhibicije i prevage ekscitatornih signala, ali verovatno i trofičkih promena uzrokovanih izmenom GABA-ergičke transmisije tokom intrauterinog razvoja.

U novijim studijama je opisan i *SCN1A* GOF fenotip koji sem familijarne hemiplegične migrene u lakšim slučajevima obuhvata i tešku D/EE sa udruženim diskinezijama i poremećajima koštano zglobnog sistema. O njima će biti više reči u Poglavlju **Error! Reference source not found.**

#### 1.4.2.2.2 Epileptogeneza kod varijanti u *SCN2A* genu

Varijante u *SCN2A* genu, koji kodira  $\alpha$  subjedinicu Nav1.2 kanala, su prvi put opisane kod samoograničene neonatalne/infantilne epilepsije (eng. *self-limited neonatal/infantile epilepsy*, SeLNIE). Od tada je opisano preko 200 varijanti u ovom genu koje su povezane sa heterogenim spektrom fenotipova, koji uključuje druge samoograničene epileptičke sindrome ranog detinjstva, ali i teške epileptičke sindrome poput rane infantilne razvojne/epileptičke encefalopatije (eng. *early infantile developmental and epileptic encephalopathy*, EIDEE, ranije Ohtahara sindrom), infantilne epilepsije sa migrirajućim fokusima (eng. *epilepsy of infancy with migrating focal seizures*, EIMFS), D/EE nalik DS, West-ovog sindroma, Lennox-Gastaut-ovog sindroma i nespecifičnih D/EE. Sa ovim varijantama je povezana i intelektualna onesposobljenost (IO), kao i poremećaji iz autističnog spektra (PAS) bez epilepsije (Wolff et al., 2017).

Vreme početka bolesti dobro koreliše sa terapijskim odgovorom na blokatore natrijumskih kanala, poput fenitoina, karbamazepina i okskarbazepina. Sindromi ranog početka tipično dobro reaguju na ove AEL, dok su oni kasnog početka pogoršani njihovom primenom. Ovo sugerise da su sindromi ranog početka možda uzrokovani GOF, dok su oni kasnijeg početka uzrokovani LOF varijantama. Među GOF varijantama opisani su različiti elektrofiziološki mehanizmi, poput usporene inaktivacije i njenog kraćeg trajanja, pojačanje perzistentnih natrijumskih sutruja, depolarizacioni pomeraj inaktivacione ili hiperpolarizacioni pomeraj aktivacione krive, sa suprotnim efektima kod LOF varijanti (Wolff et al., 2017).

Drugi mehanizam kojim se može objasniti uzrasna zavisnost sindroma povezanih sa *SCN2A* varijantama je povećana ekspresija Nav1.2 kanala u inicijalnom segmentu aksona piramidnih neurona hipokampusa i neokorteksa kod miševa u neonatalnom i infantilnom periodu, koji kasnije bivaju zamenjeni Nav1.6 kanalima. Kod adultnog miša, Nav1.2 se predilekciono nalaze na nemijelinizovanim aksonima, kao što su npr. mahovinasta vlakna hipokampusa koja se projektuju prema inhibitornim interneuronima. Izgleda da GOF varijante deluju povećanjem ekscitabilnosti piramidnih neurona kod sindroma sa ranim početkom dok je kod bolesti kasnog početka dominantni mehanizam gubitak inhibicije (Liao et al., 2010).

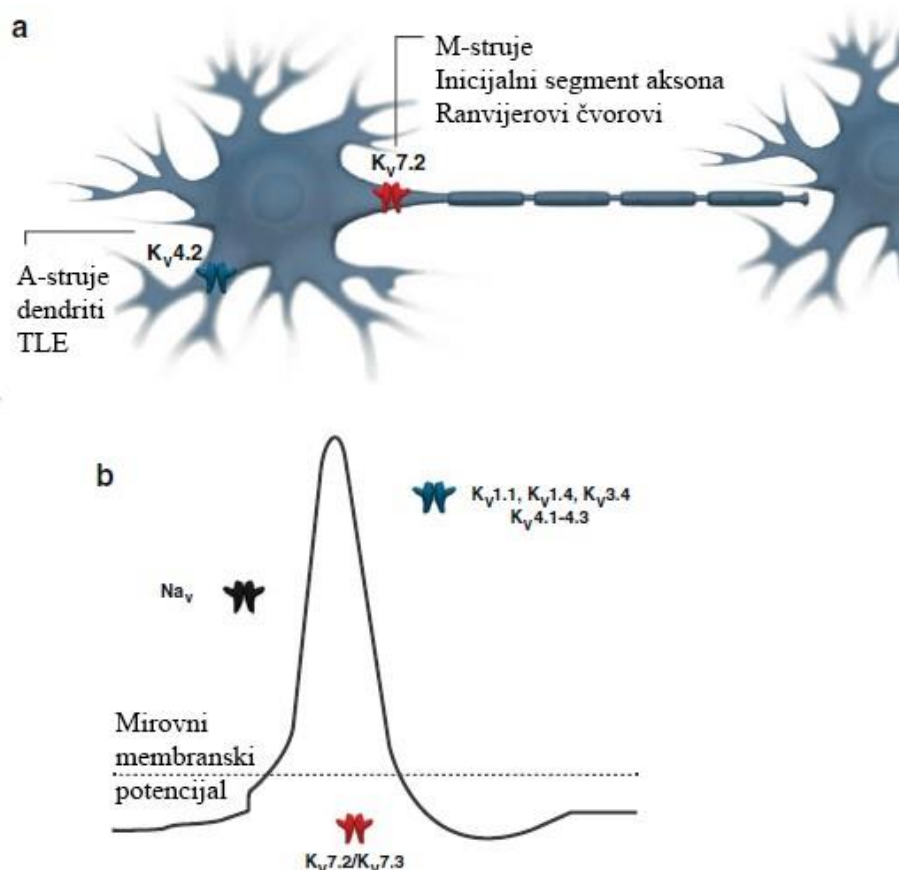
Još jedan mehanizam kojim se može objasniti uzrasna zavisnost fenotipa povezanog sa *SCN2A* varijantama je u različitoj ekscitabilnosti neonatalne i adultne izoforme kanala. Naime, adultni Nav1.2 je veće ekscitabilnosti u odnosu na neonatalnu, što je verovatno upravljeno alternativnim uzrasno zavisnim splajsingom. Tako je kod varijanti povezanih sa SeLNE, pokazana povećava ekscitabilnost neonatalnog kanala koja odgovara onoj kod adultne izoforme, čime se može

objasniti i uzrasno zavisna remisija koja nastupa sa povećanjem broja adultnih kanala (Xu et al., 2007).

#### 1.4.2.2.3 Epileptogeneza kod varijanti u *SCN1B* genu

Istorijski gledano, prvi epileptički sindrom povezan sa natrijumskom kanalopatijom je bio GEFS+ povezan sa varijantom u *SCN1B* genu za  $\beta 1$  subjedinicu natrijumskog kanala (Wallace et al., 1998). U međuvermenu su opisane brojne druge varijante u ovom genu koje su tipično povezane sa preosetljivošću na febrilnost, ali su opisani i pacijenti sa tipičnom kliničkom slikom epilepsije temporalnog režnja (Scheffer et al., 2007). Studije sa *knock-in* miševima su pokazale povećanu osetljivost na hipertermiju, kao i smanjenu ekspresiju  $\beta 1$  subjedinice u inicijalnom segmentu aksona piramidnih neurona (Wimmer et al., 2010). *In vitro* studije sugerišu gubitak funkcije  $\beta 1$  subjedinice sa posledičnim povećanjem natrijumske struje usled usporene inaktivacije i smanjenja dekrementa prilikom visokofrekventne aktivacije, kao i poremećaj interakcije izmenjene  $\beta 1$  subjedinice sa  $\alpha$  subjedinicom kanala (Meadows et al., 2002).

#### 1.4.2.3 Epileptogeneza u kalijumskim kanalopatijama



Slika 18 Subcelularna lokalizacija (a) i uloga u AP (b) različitih izoformi *Kv* kanala. Adaptirano iz Maljevic and Lerche 2013.

Voltažno zavisni kalijumski kanali čine najveću grupu jonskih kanala sa velikom raznolikošću u kinetici aktivacije i inaktivacije. Geni koji kodiraju  $\alpha$  subjedinicu voltažno zavisnih kalijumskih kanala čine najveću gensku familiju jonskih kanala sa preko 40 članova čiji proteinski produkti su klasifikovani u 12 subfamilija (Kv1- Kv12). Centralna pora je sačinjena od tetramera  $\alpha$  subjedinica u formi homotetramera ili heterotetramera različitih  $\alpha$  subjedinica koje su kodirane različitim genima

koji pripadaju istoj subfamiliji. Tako je slučaj sa Kv1, Kv7 i Kv10. Četiri subfamilije (Kv5, Kv6, Kv8 i Kv9) ne grade samostalne funkcionalne oligomere poput ostalih, već se ponašaju kao modulatorne subjedinice i grade heteromere sa Kv2 subjedinicama (Vacher et al., 2008). Raznolikosti kalijumskih kanala doprinose i brojni modulatorni molekuli (akcesorne subjedinice, kao i drugi proteini koji nisu u sastavu samog kanala), alternativni RNK splajsing i postranslacione modifikacije  $\alpha$  subjedinice peptida (Gutman et al., 2005).

Voltažno zavisni kalijumski kanali su zaduženi za generisanje dva tipa struja. Brzi kalijumski kanali su aktivirani na suprapragovnim potencijalima i generišu *A struje* koje regulišu repolarizaciju membrane, dok su spori Kv7 kanali su aktivirani na subpragovnim potencijalima i generišu *M struju* koja je neophodna za stabilizaciju membrane i deluje kao kočnica za okidanje AP (Slika 18b) (Maljevic and Lerche, 2013). Kv1 izoforme su eksprimirane duž aksona i presinaptičkih terminala, Kv2 na somi i dendritima, Kv3 na dendritima ili aksonima, Kv4 na u somatodendritskoj membrani, Kv7 na aksonima ili somatodendritskoj membrani (Slika 18a). Malo je poznato o subcelularnoj lokalizaciji Kv5-6 i Kv8-12 (Vacher et al., 2008).

#### 1.4.2.3.1 Epileptogeneza kod varijanti u *KCNA1* i *KCNA2* genima

Ovi geni kodiraju Kv1.1 i Kv1.2 kanale koncentrisane na aksonskim i presinaptičkim membranama gde su zaduženi za protok A struja odgovornih za repolarizaciju membrane tokom AP. Varijante u *KCNA1* genu su ranije opisane kod epizodične ataksije tip 1, autozomno dominantnog oboljenja kod kojeg se kao deo kliničke slike mogu javiti i epileptički napadi, ali epilepsija nije dominantni simptom bolesti. Među obolelima iz iste familije često ima članova i sa i bez epilepsije. To znači da ovaj gen možemo smatrati pre faktorom rizika za nastanak epilepsije nego genom velikog efekta, kao što su drugi do sada opisani geni u ovom poglavlju (Reid et al., 2009). Patogene varijante su tipično LOF tipa i dovode do izmenjene kinetike otvaranja kanala i redukcije amplituda kalijumskih struja. Težina kliničkog fenotipa zavisi od stepena oštećenja funkcije. *Kcn1a knock-out* miš ima epileptički fenotip, te nije sasvim jasno kojim patofiziološkim mehanizmom nastaje fenotipski spektar kod čoveka (Maljevic and Lerche, 2013). *KCNA2* varijante mogu dati sličan, ali i vrlo različit fenotip u zavisnosti od tipa varijante. GOF varijante su povezane sa težim fenotipom u okviru kojeg se javljaju D/EE, ataksija i IO (Syrbe et al., 2015), dok su LOF varijante češće povezane sa epizodičnom ataksijom i blagom epilepsijom (Corbett et al., 2016).

#### 1.4.2.3.2 Epileptogeneza kod varijanti u *KCNQ2* i *KCNQ3* genima

*KCNQ2* i *KCNQ3* kodiraju Kv7.2 i Kv7.3 voltažno zavisne kalijumove kanale. Ovi kanali kontrolišu membranske M struje koje su kočnica aksonalne ekscitacije (Delmas and Brown, 2005). Varijante u ovim genima su povezane prevashodno sa SeLNE, ali i čitavim spektrom samoograničenih fokalnih epilepsija u neonatalnom i infantilnom periodu, kao i nekim D/EE poput EIDEE (Maljevic and Lerche, 2013). Patogene varijante dovode do redukcije M struje što za posledicu ima membransku depolarizaciju i olakšano okidanje AP (Selyanko et al., 2001). Kod D/EE povezanih sa *KCNQ2* varijantama je pokazan i dominantno-negativni efekat (Orhan et al., 2014). Sem toga, opisane su i GOF varijante (Devaux et al., 2016; Millichap et al., 2017). Većina *KCNQ2* varijanti se nalazi u C-terminalnom regionu koji je ključan za oligomerizaciju (Schwake et al., 2003) kao i interakciju Kv7.2 sa kalmodulinom koji učestvuje u funkcionalnoj modulaciji kanala (Richards et al., 2004).

Uzrasna zavisnost kliničke ekspresije SeLNE je posebno interesantna. Sindrom nastupa najčešće drugog ili trećeg dana života. Kod prematurusa bolest nastupa tek drugog ili trećeg dana posle dostizanja gestacijske zrelosti od 40 nedelja, što sugeriše da je za kliničku ekspresiju potrebno dostići specifičan nivo maturacije. Bolest ulazi u spontanu remisiju tipično do šestog meseca života, koja se ne može objasniti razvojno zavisnom ekspresijom Kv7.2 i Kv7.3 kanala jer broj ovih kanala raste od embrionalnog do adultnog perioda. Verovatnije objašnjenje je u konverziji GABA-ergičke

transmisije iz ekscitatorne u inhibitornu zbog koje je tokom najranijeg razvoja neuronalna inhibicija bazirana na kalijumskim strujama od presudnog značaja te je disfunkcija uslovljena *KCNQ2* i *KCNQ3* varijantama dovoljna za nastanak napada (Okada et al., 2003). Takođe je moguće da po dostizanju kritičnog broja kanala dolazi do ekspresije bolesti koja potom ulazi u spontanu remisiju sa porastom broja kanala što posledično čini kalijumske M struje dovoljno robusnim da male izmene protoka kroz mutirani kanal ne mogu da dovedu do izmena u ekscitabilnosti (Maljevic and Lerche, 2013).

#### 1.4.2.3.3 Epileptogeneza kod varijanti u *KCNT1* genu

*KCNT1* gen kodira natrijum zavisni kalijumski kanal ( $K_{Na}$ ) koji, slično  $Kv2.1$  kanalu, učestvuje u generisanju spore inaktivirajuće kalijumske struje koja je uključena u hiperpolarizaciju membrane pri repetitivnoj stimulaciji. GOF varijante u ovom genu su opisane kod EIMFS (Barcia et al., 2012) i teškoj formi ADSHE ranog početka koja je praćena psihijatrijskim komorbiditetima i IO (Heron et al., 2012). U oba slučaja epilepsija je vrlo rezistentna na AEL. Barcia i sar. su opisali konformacione promene uslovljene genskom varijantom koje su slične onim koje se vide pri aktivaciji normalnog kanala. To za posledicu ima višestruko uvećanje amplitude jonske struje. Drugi mehanizmi potencijalno uključeni u fenotipsku heterogenost su interakcije sa drugim membranskim proteinima uključenim u razvojne signalne puteve, što može imati ulogu kako u epileptogenezi, tako i u nastanku neurorazvojnih poremećaja (Weckhuysen and Korff, 2014). Milligan i sar. su pokazali uvećanje kalijumskih struja u *in vitro* modelima četiri varijante opisane kod ADSHE i tri varijante opisane kod EIMFS, sa višestruko većim uvećanjem kod EIMFS varijanti (Milligan et al., 2014). Autori su u istoj studiji pokazali da kinidin efikasno i reverzibilno blokira kako sve varijante ovog kanala. Međutim, uprkos obećavajućim laboratorijskim rezultatima, kinidinska terapija kod pacijenta sa ovim poremećajem je dala razočaravajuće rezultate, verovatno usled ograničenja nametnutih čestim kardiološkim srčanim aritmijama koje se javljaju kao neželjeni efekti ili neefikasnošću usled kasne primene, ograničenog transporta kroz hematoencefalnu barijeru ili drugih do sada nedovoljno razjašnjenih mehanizama (Gertler et al., 1993).

#### 1.4.2.4 Epileptogeneza kod varijanti u genima za nikotinski receptor

Nikotinski acetil-holinski (nACh) i  $GABA_A$  receptori pripadaju istoj familiji ligand zavisnih kanala. nACh receptori imaju pentamernu strukturu sačinjenu od dve  $\alpha$  i tri  $\beta$  subjedinice. Do danas je opisano 17 nACh receptor subjedinica –  $\alpha_2$ -  $\alpha_{10}$  i  $\beta_2$ -  $\beta_4$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  i  $\gamma$  sa različitom ekspresijom u nervnom tkivu. Njihova subcelularna lokalizacija je tipično na somi i dendritima postsinaptičkih neurona, gde su direktno uključeni u neuronalnu transmisiju ili na aksonskim terminalima gde imaju modulatornu ulogu. Najčešće subjedinice u mozgu su  $\alpha_4$  i  $\beta_2$ , kodirane od strane *CHRNA4* i *CHRN2* gena. *CHRNA2* kodira  $\alpha_2$  subjedinicu koje je predilekciono locirana na GABA-ergičkim interneuronima (Hogg et al., 2003).

Varijanta u  $\alpha_4$  subjedinici nikotinskog acetil-holinskog receptora je opisana još 1995. u retkom monogenskom sindromu fokalne epilepsije, ADSHE (Steinlein et al., 1995). Od tada, više varijanti sa istim fenotipom je opisano u ovom genu, kao i srodnim *CHRNA2* i *CHRN2* genima (Conti et al., 2015; De Fusco et al., 2000; Phillips et al., 2001; Trivisano et al., 2015b). Varijante povezane sa ADSHE tipično zahvataju M2 transmembranski segmenti i u *in vitro* modelima povećavaju osetljivost receptora na acetil-holinsku aktivaciju (Fonck et al., 2003), verovatno putem stehiometrijskih izmena kanalskih heteromera (Son et al., 2009). Liganndna preosetljivost dovodi do izmene receptorske kinetike i do povećanog influksa kalcijuma, što posledično dovodi do povećanog oslobađanja neurotransmitera (Reid et al., 1998).

Kod *knock-in* miševa sa patogenim humanim varijantama je pokazano čak 20 puta povećano oslobađanje transmitera u inhibitornim sinapsama pri acetil-holinskoj stimulaciji. Ovakvo uvećanje GABA-ergičke inhibicije je koncentrisano na piramidnim neuronima II i III kortikalnog sloja, koji su u fiziološkim uslovima asinhrono aktivirani. Simultana i snažna inhibicija ovih neurona verovatno

dovodi do patološke hipersinhronizacije njihovog okidanja, što objašnjava prividno paradoksalnu prevagu inhibicije u patogenetskom mehanizmu nastanka epileptičkih napada (Klaassen et al., 2006). Ova hipoteza je podržana i supresijom napada primenom subkonvulzivnih doza blokatora GABA<sub>A</sub> receptora (Mann and Mody, 2008).

#### 1.4.2.5 Epileptogeneza kod varijanti u genima za GABA<sub>A</sub> receptor

GABA<sub>A</sub> receptor je, slično nACh receptoru, takođe pentamerne strukture, ali je, nasuprot katjon selektivnom nACh receptoru, selektivan za anjone. Poznato je šest  $\alpha$ , četiri  $\beta$ , tri  $\gamma$ , jedna  $\delta$ , jedna  $\epsilon$ , jedna  $\pi$  i tri  $\rho$  subjedinice ali je daleko najčešći kombinacija nađena u čovekovom mozgu  $2\alpha_12\beta_21\gamma_2$  (Sieghart et al., 1999). GABA<sub>A</sub> receptor je ključni posrednik u inhibitornoj modulaciji neuralnih signala (Noebels et al., 2012).

Kako je GABA je glavni inhibicioni neurotransmiter u mozgu sisara, nije iznenađujuće da je disfunkcija GABA transmisije povezana sa nastankom epilepsije. Do danas su u epilepsiji opisane samo varijante u genima za GABA<sub>A</sub> receptor sa kojima je povezan širok fenotipski spektar od blažih sindroma poput febrilnih napada, GEFS+ ili GGE na jednom do DS i drugih D/EE na drugom kraju (Harkin et al., 2002; Møller et al., 2017; Reid et al., 2009).

Epilepsija je često vezana za varijante u *GABRG2* i *GABRA1* genu. Ovi geni kodiraju  $\gamma_2$  i  $\alpha_1$  subjedinicu koje ulaze u sastav najrasprostranjenije subjedinice garniture GABA<sub>A</sub> receptora u mozgu,  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ . Veliki broj *in vitro* studija je izučavao funkcionalne posledice varijanti u ovim genima kod kojih su pokazane izmene aktivacione ili inaktivacione kinetike, smanjenje neuronalne ekspresije kanala, poremećaj sklapanja i ugradnje jonskog kanala u ćelijsku membranu ili smanje afiniteta za vezivanje liganda (Audenaert et al., 2006; Bianchi et al., 2002; Bowser et al., 2002; Harkin et al., 2002; Kang et al., 2006; Krampfl et al., 2005; Møller et al., 2017; Sancar and Czajkowski, 2004). Sveukupno, ovi rezultati verovatno ukazuju na hiperekscitabilnost nastalu usled poremećaja GABA<sub>A</sub> posredovane inhibicije. Uz to, u *in vivo* modelima R43Q varijante u *GABRG2* genu su, sem izmena jonskog protoka (Tan et al., 2007), pokazane i razvojne izmene ekscitabilnosti u neuronalnoj mreži (Chiu et al., 2008). Ovo sugerise da patogene *GABRG2* varijante dovode do izmena složene kaskade događaja koji upravljaju dugoročnom stabilnošću neuronalne mreže.

Većina istraživanja je fokusirana na fazičku GABA<sub>A</sub> transmisiju. Međutim, kod pomenute R43Q *GABRG2* varijante u *in vitro* modelima je pokazana redukcija toničkih struja, dok su fazičke struje bile neizmenjene (Eugène et al., 2007). Šta više, sugerisano je da varijante u *GABRD* genu za  $\delta$  subjedinicu mogu biti faktori rizika u patogenezi GEFS+ i juvenilne miokloničke epilepsije (JME) (Dibbens et al., 2004). Receptori koji sadrže  $\delta$  subjedinicu su eksprimirani ekskluzivno u na ekstrasinaptičkoj membrani gde ih aktivira ambijentalno prisutna GABA zbog čega oni učestvuju isključivo u toničkim strujama (Mody, 2001). Moguće je da tonička inhibicija igra veću ulogu nego što se ranije mislilo.

GABA-ergička transmisija je zavisna od intracelularne koncentracije hlora koja je kontrolisana katjon-hloridnim transporterom KCC2. Ovaj transporter kodira *SLC12A5* gen čije varijante su utvrđene kod pacijenata sa febrilnim napadima (Puskarjov et al., 2014), EIMFS (McTague and Kurian, 1993) i GGE (Genç et al., 2019). Ovo, uz već pokazanu disfunkciju inhibicije kod *SCN1A*, *SCN2A* i *KCNK1* varijante, podržava hipotezu da je GABA-ergička disfunkcija jedan od najčešćih mehanizama epileptogeneze kod genetskih epilepsija.

#### 1.4.2.6 Epileptogeneza kod varijanti u genima za NMDA receptor

N-metil-D-aspartat (NMDA) receptor je kalcijumski kanal i jedan od tri jonotropna glutamatna receptora. Familija NMDA receptora se sastoji od tri subjedinice (GluN1-3). Funkcionalni NMDA receptor je heterotetramer koji se sastoji od dve glicin-vezujuće GluN1 jedinice



u kombinaciji sa dve glutamat-vezujuće GluN2 ili glicin-vezujuće GluN3 jedinice (Myers et al., 2019). GluN1 jedinicu kodira *GRIN1* gen, čija RNK podleže posttranskripcionim izmenama koje daju osam različitih varijanti. GluN2 je kodirana pomoću četiri (*GRIN2A-D*), a GluN3 pomoću dva (*GRIN3A-B*) gena. Najčešći tetramer u mozgu čoveka se sastoji od dve GluN1 i dve GluN2 subjedinice (GluN1/GluN2).

Aktivaciju ovog NMDA receptor zahteva vezivanje dva molekula glicina kao i dva molekula glutamata. Glicin je u prisutan u ekstracelularnoj tečnosti centralnog nervnog sistema (CNS) i njegova vezujuća mesta su u fiziološkim uslovima popunjena. Sem toga, za otvaranje kanala i protok jona kalcijuma je neophodno i izmeštanje jona magnezijuma koji zauzima prostor u unutrašnjosti centralne pore kanala. Aktivacija brzih AMPA (eng.  *$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid*) glutamatnih receptora dovodi do prolongirane subpragovna depolarizacija neophodne za izmeštanje magnezijumovih jona. Ovo sugeriše da glavna uloga NMDA receptora nije u brznoj ekscitatornoj transmisiji, za koju su verovatno odgovorni AMPA receptori, već u dugoročnoj regulaciji neuronalnog plasticiteta posredstvom kalcijumske intracelularne signalne kaskade (Vyklucky et al., 2014). Samim tim, nije iznenađujuće da je NMDA posredovana transmisija uključena u razvoj, pamćenje i druge kognitivne funkcije (Traynelis et al., 2010).

Iako je NMDA receptor ključna karika u regulaciji ekscitabilnosti u mozgu, njegova uloga u patogenezi genetskih epilepsija je tek nedavno prepoznata kada su utvrđene genske varijante u *GRIN2A* genu uključene u patogenezu poremećaja iz epilepsija-afazija spektra (Carvill et al., 2013; Lesca et al., 2013). U velikoj studiji pacijenta sa fokalnom epilepsijom su nađene varijante u ovom genu kod čak 6,7% obolelih. Funkcionalna analiza ovih varijanti je pokazala GOF mehanizam usled redukcije blokade receptora pomoću magnezijumovog jona i povećanog protoka kalcijumskih jona (Lemke et al., 2013). Međutim, kasnija identifikacija *null* varijanti sa posledičnom haploinsuficijencijom je zakomplikovala razumevanje ovih patogenetskih mehanizama. Hipotetisano je da kompenzatorna supstitucija nedostajuće GluN2A subjedinice GluN2B subjedinicom dovodi do produžene aktivacije NMDA receptora što bi efektivno dovelo do GOF posredovane *null* varijantom (Paoletti et al., 2013), ali funkcionalne studije nisu potvrdile ovu hipotezu (Strehlow et al., 2019). Šta više, izgleda da su *null* varijante, kao i LOF *missense* varijante u *GRIN2A* genu povezane sa blagim fenotipom, dok su GOF varijante u osnovu D/EE (Strehlow et al., 2019). LOF kao i GOF varijante u *GRIN2D* i *GRIN1* su pokazane i kod nespecifičnih D/EE (Lemke et al., 2016; Li et al., 2016).

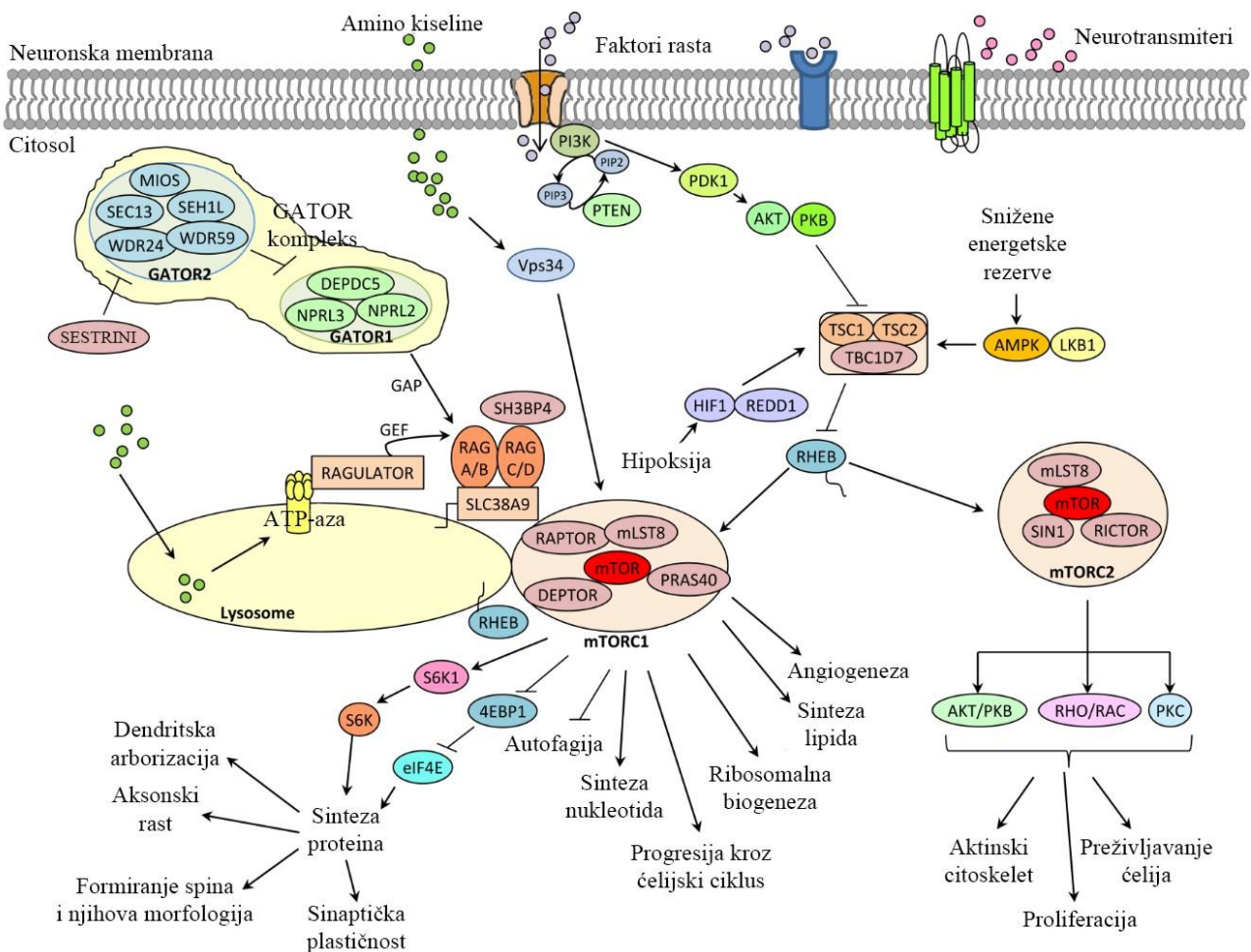
### 1.4.3 Epilepsije usled varijanti u genima mTOR signalnog puta

#### 1.4.3.1 Komponente i signalna kaskada mTOR signalnog puta

Mehanicistička meta rapamicina (eng. *mechanistic target of rapamycin*, mTOR) je serin/treonin kinaza koja deluje kao regulator ćelijskog rasta, proliferacije, diferencijacije i preživljavanja (Slika 19). Ovaj protein je ubikvitarno prisutan u svim ćelijama sisara, ali je u posebno visokim koncentracijama prisutan u mozgu (Baldassari et al., 2016; Moloney et al., 2021). mTOR, u kombinaciji sa pomoćnim molekulima, gradi mTOR kompleks 1 (eng. *mTOR complex 1*, mTORC1) i mTOR kompleks 2 (eng. *mTOR complex 2*, mTORC2).

mTORC1 je pod kontrolom regulatornih proteina na koje utiču faktori rasta ili koncentracije adenzin trifosfata (ATP) i aminokiselina. Aktivirani mTORC1 promoviše ćelijski rast i preživljavanje regulacijom translacije iRNK, sinteze nukleotida i autofagije (Baulac, 2016; Crino, 2016; Laplante and Sabatini, 2012). Glavni nishodni supstrati mTORC1 su ribosomalna p70 S6 kinaza (S6K) i protein koji vezuje eukariotski translacioni faktor 4E (eng. *eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein*, 4E-BP1). Iz tog razloga se fosforilacija S6K često koristi kao marker aktivacije mTORC1 u *in vitro* studijama. U mozgu, mTORC1 igra važnu ulogu u regulaciji sinaptičke transmisije, plasticiteta, aktivnosti neuronalne mreže i neurogeneze (Crino, 2016; Lasarge and Danzer, 2014; Moloney et al., 2021).

Ushodna kontrola aktivnosti mTORC1 se vrši preko više signalnih molekula među kojima je i proteinski heteromer TSC1:TSC2, izgrađen od hamartina (TSC1) i tuberina (TSC2). TSC1:TSC2 integriše signale faktora rasta, poput IGF-1 (eng. *insulin-like growth factor 1*) i EGFR (eng. *epidermal-derived growth factor receptor*) i energetskih nivoa u ćeliji posredovanih preko PI3K (eng. *phosphoinositide-3 kinase*), Akt/PKB (eng. *protein kinase B*), PDK1 (eng. *3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1*), LKB1/STK11 (eng. *liver kinase B/serine/threonine kinase 11*) i AMPK (adenozin monofosfat kinaze) (Loewith et al., 2002; Orlova and Crino, 2010). TSC1:TSC2 deluje kao konstitutivni inhibitor mTORC1 i mTORC2 posredstvom Rheb (eng. *Ras-homolog expressed in brain*), gunanozin trifosfat GTPaze iz Ras familije (Garami et al., 2003; Inoki et al., 2003). Aktivnost TSC1:TSC2 je regulisana fosforilacijom pomoću nekoliko kinaznih sistema. Na primer faktori rasta inhibiraju aktivnost TSC2 aktivacijom MAP kinaznog i PI3K signalnog puta koja dovodi do disocijacije TSC1:TSC2 kompleksa i dezinhibicije mTORC1, što dovodi do ćelijskog rasta. Nasuprot tome, fosforilacija TSC2 pomoću AMPK dovodi do aktivacije TSC1:TSC2 kompleksa i inhibicije mTORC1 (Crino, 2011).



Slika 19 Shematski prikaz mTOR signalnog puta adaptirano iz Baldasari et al., 2016

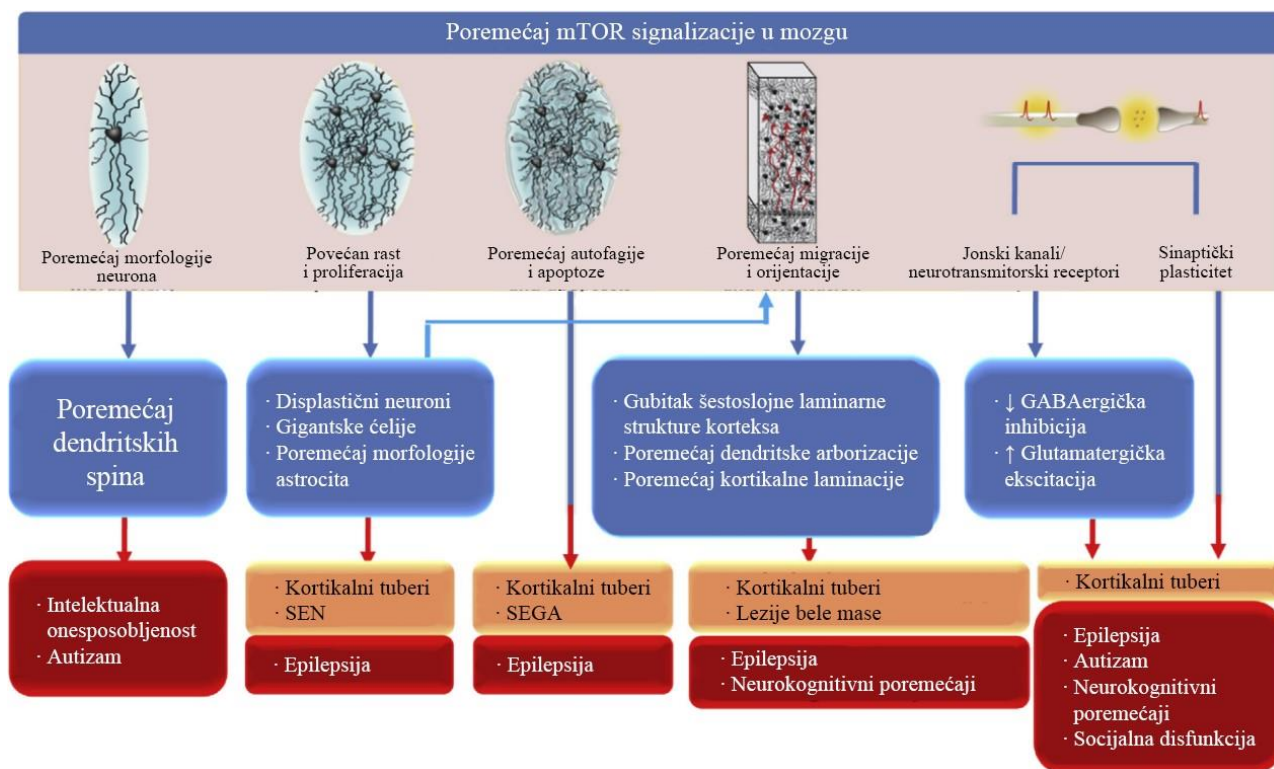
Ćelijske koncentracije aminokiselina utiču na aktivnost mTORC1 posredstvom GATOR1 (eng. *GAP activity toward rags complex 1*) proteinskog kompleksa. GATOR1 kompleks se sastoji od DEPDC5 (eng. *dishevelled, egl-10, pleckstrin (DEP) domain-containing 5*), NPRL2 (eng. *nitrogen permease regulator 2-like protein*) i NPRL3 (*nitrogen permease regulator 3-like protein*) proteina, koji zajednički deluju kao mTORC1 inhibitor (Bar-Peled et al., 2013). GATOR1 je kontrolisan pomoću GATOR2 kompleksa koji se sastoji od pet komponenti: MIOS (eng. *missing oocyte meiosis regulator homolog*), SEC13 (SEC13 homolog), SEH1L (eng. *SEH1-like*), WDR24 (eng. *WD repeat domain 24*), i WDR59 (eng. *WD repeat domain 59*). U uslovima povećane koncentracije

aminokiselina GATOR2 inhibira GATOR1 što dovodi do dezinhibicije mTORC1 i proteinske translacije i ćelijskog rasta (Huang and Manning, 2008). Komponente GATOR1 i GATOR2 kompleksa su evolutivno visokokonzervirane, pogotovu DUF3608 domen *DEPDC5* gena (Algret et al., 2014; Dokudovskaya and Rout, 2015).

### 1.4.3.2 Hiperaktivnost mTOR signalnog puta u mTORopatijama

Disregulacija mTORC1 signalnog puta uslovljena genskim varijantama obuhvata grupu oboljenja koja se jednim imenom nazivaju *mTORopatije*. U okviru kliničkog spektra ovih oboljenja, epilepsija se sindromski javlja kao fokalna epilepsija ili D/EE. U oba slučaja ona može biti povezana sa malformacijama kortikalnog razvoja kao što su FCD, hemimegalencefalija i kortikalni tuberi, ali se u nekim slučajevima može javiti i bez vidljivih promena na MR mozga. Kortikalne malformacije u mTORopatijama se mogu javiti kao posledica varijanti u germinativnim ćelijama ili somatskih varijanti ograničenih na patološki izmenjeno tkivo. Zajednička patohistološka karakteristika ovih lezija su poremećaj ćelularne morfologije sa pojavom dizmorfičnih neurona (DN) i baloniranih ćelija (eng. *balloon cells*, BC), dezorganizacija kortikalne laminacije, neuronalna hiperekscitabilnost i konstitutivna aktivacija mTORC1 (Iffland et al., 2019). DN igraju važnu ulogu u generisanju i propagaciji epileptičkih pražnjenja, dok su BC elektrofiziološki inertne (Cepeda et al., 2003).

Razmatran je veliki broj hipotetičkih mehanizama u mTORopatijama i verovatno je rezultujuća klinička slika posledica njihove međusobne interakcije i zbirnog efekta (Slika 20) (Curatolo, 2015). S obzirom na to da je mTOR signalizacija uključena u razvoj CNS, logično je da njena hiperaktivacija u mTORopatijama dovodi do globalnog poremećaja neuronalne arhitektonike i konektivnosti u mozgu (Baldassari et al., 2016). Sa druge strane, hiperescitabilnost mozga je pokazana u nekim animalnim modelima mTORC1 hiperaktivnosti čak i u odsustvu strukturnih promena (Abs et al., 2013). Radi boljeg razumevanja posledica mTOR disregulacije razvijeno je više *in vitro* i *in vivo* modela, ali su dragocena i ispitivanja na *ex vivo* materijalnu obolelih od epilepsije koji su podvrgnuti hirurškom lečenju. Pregled najvažnijih saznanja iz ovih studija je dat u narednim odeljcima.



Slika 20 Hipotetisani mehanizmi eleptogeneze u mTORopatijama, adaptirano iz Curatolo et. al., 2015

#### 1.4.3.2.1 *In vitro* funkcionalni modeli mTORopatija

U *in vitro* studijama je pokazana hiperaktivnost mTORC1 povezana sa mnogim genskim varijantama koje su prethodno opisane kod pacijenta sa epilepsijom. Funkcionalne studije mnogih varijanti u genima koji kodiraju inhibitore mTORC1, poput *TSC1*, *TSC2* (Hoogeveen-Westerveld et al., 2011), *DEPDC5* (Dawson et al., 2020; van Kranenburg et al., 2015), *NPRL2* i *NPRL3* (Dawson et al., 2020) i *STRADA* su pokazale povećanu fosforilaciju S6K, a samim tim i mTORC1 hiperaktivnost.

Patogene varijante u *DEPDC5* i *NPRL2* i *NPRL3* genima su uglavnom inaktivisjuće, odnosno dovode do redukovanih količina proteinskog produkta ili čak njegovog potpunog odsustva (Baulac, 2016). Hoogeveen-Westerveld i sar. su u funkcionalnim *in vitro* modelima ispitivali 45 varijanti u *TSC1* i 107 varijanti u *TSC2* genu prethodno identifikovanih kod pacijenta sa TSC (Hoogeveen-Westerveld et al., 2011). Među njima su identifikovali 16 *TSC1* i 38 *TSC2* varijanti kod kojih su pokazali povećanu mTORC1 aktivnost kao i smanjenu koncentraciju njihovog proteinskog produkta. Slično tome, Van Kranenburg i sar. su ispitivali 10 varijanti identifikovanih u *DEPDC5* genu kod pacijenta sa epilepsijom i našli su znake dezinhibicije mTORC1 (van Kranenburg et al., 2015). Dve su bile *nonsense* varijante, a treća je bila *frameshift* varijanta. Preostalih sedam varijanti su bile *missense* tipa i kod njih su registrovane samo suptilne promene u aktivnosti mTORC1 ili je njegova aktivnost bila potpuno neizmenjena. Autori su zaključili da je moguće da *missense* varijante ostvaruju svoj patogeni efekat posredstvom drugih mehanizama ili dovode do suptilnijih funkcionalnih deficita što se manifestuje lakšom kliničkom slikom kod nosilaca varijanti, mada se ne može isključiti da su među njima neke bile benigne varijante. Varijante u komponentama GATOR1 kompleksa su povezane sa neosetljivošću ćelije na aminokiselinsku depleciju, što za posledicu ima disregulaciju ćelijskog rasta značajnu za razvoj malformacija kortikalnog razvoja (Bar-Peled et al., 2013; Iffland et al., 2018).

mTOR disregulacija dovodi do alteracije inhibitorne i ekscitatorne sinaptičke transmisije. U *in vitro* ispitivanjima je pokazano da hiperaktivacija mTOR signalnog puta dovodi do povećanja i glutamatergičke i GABA-ergičke transmisije (Weston et al., 2012). Uz to, poremećaj razvoja kao i disrupcija već formiranih neuronalnih kola verovatno rezultuju zbirnom prevagom ekscitatorne transmisije na nivou neuralnih mreža. Ovim bi se moglo objasniti odsustvo funkcionalnih promena u *in vitro* modelima kod nekih GATOR1 varijanti, s obzirom na to da oni nisu dizajnirani da sagledaju šire mrežne efekte mTORC1 hiperaktivacije (Baldassari et al., 2016).

#### 1.4.3.2.2 Animalni modeli mTORopatija

Animalni modeli mTORopatija su razvijeni sa ciljem da prevažidu prethodno pominjana ograničenja *in vitro* studija. U studijama sa uslovnim *knock-out* *Pten*, *Tsc1* i *Tsc2* glodarima je pokazana dezorganizacija kortikalne laminacije sa citomegaličnim neuronima, hiperaktivnost mTORC1 i napadi osetljivi na rapamicin (Nguyen et al., 2015; Zeng et al., 2011, 2008). Rapamicin je takođe imao profilaktički efekat na razvoj neurološkog fenotipa u TSC modelima kada je primenjen rano u toku embrionalnog razvoja (Zeng et al., 2011, 2008). Interesantno je istaći da su kod *Tsc1* *knock-out* miša prisutni spontani epileptički napadi bez prisutnih značajnih strukturnih promene u mozgu, što sugerise moguću direktnu ulogu hiperaktivnosti mTORC1 u neuralnoj hiperekscitabilnosti (Abs et al., 2013). Bateup i sar. su pokazali da gubitak *Tsc1* u mišijem hipokampusu dovodi do neuravnotežene inhibitorne i ekscitatorne neurotransmisije što rezultuje sveukupnom hiperekscitabilnošću. Ona se klinički manifestuje sniženim pragom za nastanak epileptičkih napada kod ovih eksperimentalnih životinja (Bateup et al., 2013).

Potpuni *knock-out* *DEPDC5* gena kod eksperimentalnih životinja je inkompatibilan sa životom, zbog čega su razvijeni *in vivo* modeli sa delimičnim isključenjem njegove funkcije koji oponaša humanu haploinsuficijenciju prisutnu kod pacijenta sa heterozigotnim *DEPDC5*

varijantama. Kod *Depdc5 knock-down* pacova, kod kojeg je aktivnost gena redukovana, ali ne i potpuno odsutna, nađeni su citomegalični dismorfični neuroni, hiperekscitabilnost kortikalnih neurona, hiperaktivnost mTORC1 i klinički snižen prag za nastanak epileptičkih napada (Marsan et al., 2016; Yuskaitis et al., 2018a). U modelu *Depdc5* kondicionalno *knock-out* miša je nađena mTORC1 hiperaktivnosti, kortikalno zadebljanje i citomegalični neuroni, što je klinički praćeno sponatanim napadima i prevremenom smrću životinje. Ove posledice su bile značajno redukovane primenom rapamicina (Klofas et al., 2020). *Nprl2* i *Nprl3 knock-out* modeli miša postoje, ali su takođe nekompatibilni sa životom i kod njih do sada nisu ispitivane neurološki poremećaji (Dutchak et al., 2015; Kowalczyk et al., 2012).

#### 1.4.3.2.3 *Ex vivo* materijal resektovanog moždanog tkiva pacijenata

Mnogi pacijenti imaju fokalnu epilepsiju vezanu za malformacije kortikalnog razvoja koja se tipično klinički manifestuje farmakorezistentnom bolešću koja neretko zahteva hirurško lečenje (Najm et al., 2014). Analiza ovih operativnih preparata može pomoći u razumevanju epileptogeneze u ovim oboljenjima.

Jedna studija sa resektovanim kortikalnim tuberima obolelih od TSC je pokazala konstitutivnu aktivaciju mTORC1 u tkivu tubera kao i u piramidalnim neuronima histološki normalnog korteksa (Miyata et al., 2004). Talos i sar. su pokazali povećanu fosforilaciju S6K u različitim patološki izmenjenim ćelijama, kao što su gigantski i displastični neuroni i reaktivni astrociti (Talos et al., 2008). Imunohistohemijskim bojenjem pokazali su i izmenu u subjediničnoj garnituri AMPA i NMDA glutamatnih receptora što za posledicu ima alteraciju neurotransmisije u tkivu tubera.

U FCD tip IIb je ranije pokazana povećana konstitutivna aktivacija mTORC1, pogotovu u BC koje predstavljaju histološki marker poremećaja (Baybis et al., 2004). Ranije studije su pokazale da je disregulaciju mTOR signalnog sistema kod mnogih pacijenta posledica somatskih varijanti u inhibitorima, kao što su komponentne GATOR1 kompleksa ili aktivatorima (*MTOR*, *PIK3CA*, *AKT3* i *RHEB*) mTORC1 (Baldassari et al., 2019b; Jansen et al., 2015; Lee et al., 2002; Lim et al., 2015). Međutim, u novijim istraživanjima su pokazane i germinativne varijante komponenti GATOR1 kod pacijenta sa FCD tip IIb (Lee et al., 2020; Sim et al., 2016; Weckhuysen et al., 2016), tip IIa (Scerri et al., 2015; Weckhuysen et al., 2016), kao i tip I (Weckhuysen et al., 2016). Ovo sugerše postojanje kontinuuma alteracije u aktivnosti mTORC1 koja je praćena spektrom citoloških izmena. Šta više, Baulac i sar. su pokazali prisustvo udruženih somatskih i germinativnih varijanti u inhibitorima mTORC1 u ovim lezijama (Baulac et al., 2015). Stoga je zaključeno da je moguće da se patogeneza ovih bolesti odvija po modelu *drugog udarca* (eng. *second hit*). Gradijent mTORC1 hiperaktivnosti i citoarhitektonskih promena je takođe praćen i rastućom akumulacijom somatskih varijanti, tako da je najveća stopa varijanti pokazana u tkivu sa izraženijim citološkim promenama dok je postepeno opadao ka periferiji lezije (Baldassari et al., 2019b; Lee et al., 2020). Šta više, u preparatima FCD tip II je pokazana i povećana konstitutivna aktivacija mTORC1 čak i u odsustvu somatskih ili germinativnih varijanti u poznatim inhibitorima ili aktivatorima ovog signalnog sistema, što sugerše postojanje alternativnih mehanizama epileptogeneze koji se završavaju istim signalnim putem (Baldassari et al., 2019b).

## 1.5 Monogenske fokalne epilepsije

Kao što je ranije pominjano, među epileptičkim sindromima postoji širok spektar monogeniski determinisanih oboljenja. Oslanjajući se na prethodno pominjanu etiološku klasifikaciju epilepsija (Shorvon et al., 2019), ove bolesti se mogu svrstati u jednu od navedenih grupa:

A. **Čiste monogenske epilepsije** poput SeLNE, SeLNIE, SeLIE, ADSHE, GEFS+, familijarne epilepsije temporalnog režnja (eng. *familial temporal lobe epilepsy*, FTLE), familijarne fokalne epilepsije sa varijabilnim fokusima (eng. *familial focal epilepsy with variable foci*, FFEVF)

i neki slučajevi GGE. Ove bolesti karakteriše epilepsija kao dominantni simptom bolesti koji može biti praćen suptilnim kognitivnim oštećenjem ili psihijatrijskim komorbiditetima koji su tipičan pratilac epilepsije, ali nemaju druge značajne fenotipske elemente. Nasleđuju se po autozomno dominantnom obrascu ali sa redukovanom penetrantnošću.

**B. Razvojne/epileptičke encefalopatije** sa početkom u ranom detinjstvu, koje karakteriše epilepsija, poremećaj razvoja i izražena epileptiformna interiktalna pražnjenja. Poremećaj razvoja može biti direktno uslovljen varijantom, ali može nastati i kao posledica teškog epileptičkog sindroma, a kod mnogih pacijenta je nemoguće utvrditi pojedinačni upliv ova dva mehanizma. Ovoj grupi oboljenja pripada EIDEE, Dravet sindrom, EIMFS i neki slučajevi sa West sindromom, Lennox-Gastaut sindrom, Landau-Kleffner sindrom (LKS), razvojna i/ili epileptička encefalopatija sa šiljak talas aktivnošću u spavanju (eng. *developmental and/or epileptic encephalopathy with spike-wave activation in sleep*, D/EE-SWAS), itd. Genetski uzrok oboljenja, najčešće *de novo* varijantu, je moguće otkriti kod čak 20-50% obolelih (Allen et al., 2013). Ovo je ujedno i grupa oboljenja u kojima je otkriven najveći broj genetskih uzročnika epilepsije.

**C. Epilepsije u okviru genetski determinisanih multisistemskih oboljenja** kao što su mitohondrijske bolesti, neurokutani sindromi i urođeni poremećaji metabolizma u kojima je epilepsija samo deo kompleksnog fenotipa. Značajan broj osoba sa ovim oboljenjima nema epilepsiju.

**D. Progresivne miokloničke epilepsije** poput DRPLA, Lafora-ine bolesti, NCL, sijalidoze i Unverricht-Lundborg-ove bolest (ULD). Ovu grupu čine autozomno recesivna progresivna neurodegenerativna oboljenja sa početkom u detinjstvu ili adolescenciji, koja su tipično letalna. Primarno se manifestuju teškom miokloničkom epilepsijom koja može imati inacijalni odgovor na AEL, ali se po pravilu kasnije razvija i teška FRE sa dominantnim miokloničkim, ali i drugim tipovima napada. Neurodegeneracija je praćena drugim neurološkim simptomima, najčešće cerebelarnom i ekstrapiramidnom disfunkcijom. Interesantno je istaći da je ULD povezan sa ekspanzijom broja dodekamernih ponovka u *CSTB* genu koji je do skoro bio jedini entitet u epileptologiji koji je povezan sa varijantom u nekodirajućem segmentu DNK (Ramachandran et al., 2009).

**E. Hromozomske aberacije** poput Down-ovog ili fragilnog X sindroma ili ring hromozoma 14, 15 i 20 u kojima je epilepsija obično deo širokog fenotipa

**F. Poremećaji cerebralnog razvoja** poput agenezije corpus callosum-a, hemimegalencefalije, periventrikularne nodularne heterotopije i slično, gde je epilepsija posledica genetski determinisane epileptogene lezije. Ipak, strogo razdvajanje ovih bolesti od drugih genetskih epilepsija nije moguće zbog čestog preklapanja između gena koji izazivaju epilepsiju sa i bez kortikalnih malformacija, kao što je slučaj sa genima koji kodiraju regulatore mTOR signalnog puta. Šta više, mnoge kortikalne malformacije nastaju kao posledica somatskih mozaicizama u moždanom tkivu.

Prvi utvrđeni monogeniski epileptički sindrom je već ranije pominjana ADSHE, nakon čega je prepoznato da u heterogenoj grupi ranije nazivanih, kriptogenih fokalnih epilepsija sa pretpostavljenom skrivenom lezijom u stvari postoje klasične genetski determinisane bolesti ranije nazivane idiopatskim. Od tada je pored ADSHE identifikovano više monogeniskih fokalnih epileptičkih sindroma (Tabela 7) (Perucca, 2018).

ILAE klasifikacija i definicija epileptičkih sindroma iz 2022. kao samostalne entitete prepoznaje šest čistih monogeniskih fokalnih sindroma. Tri pripadaju spektru samoograničenih neonatalnih i infantilnih fokalnih epilepsija - SeLNE, SeLNIE i SeLIE (Zuberi et al., 2022). Druga tri čine monogeniski sindromi FE sa varijabilnim vremenom početka: već pominjana ADSHE, FFEVF

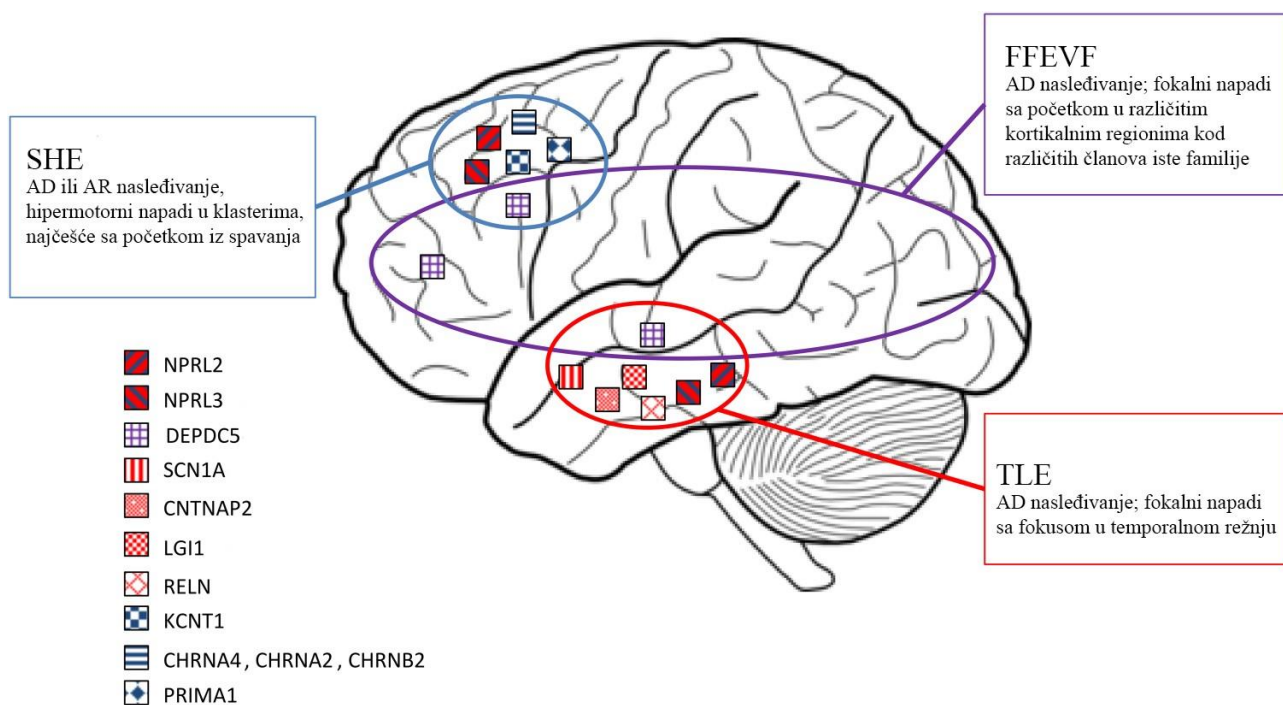
i autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima (eng. *autosomal dominant epilepsy with auditory features*, ADEAF) (Riney et al., 2022).

Tabela 7 Geni uključeni u patogenezu monogenih fokalnih epilepsija, adaptirano iz Perucca, 2018

Klinički sindrom	Identifikovani uzročni geni
ADSHE	<i>CHRNA4, CHRNA2, CHRN2, DEPDC5, NPRL2, NPRL3, PRIMA1</i>
ADEAF	<i>LG11, RELN, MICAL-1</i>
ADRESA	<i>GRIN2A</i>
FFEVF	<i>DEPDC5, NPRL2, NPRL3</i>
FMTLE	<i>DEPDC5</i>
SeLNE	<i>KCNQ2, KCNQ3</i>
SeLNIE	<i>SCN2A, KCNQ2</i>
SeLIE	<i>PRRT2, SCN8A, KCNQ2, KCNQ3, SCN2A</i>

ADSHE – autozomno dominantna hipermotorna epilepsija u spavanju (eng. *autosomal dominant hypermotor sleep epilepsy*); ADEAF – autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima (eng. *autosomal dominant epilepsy with auditory features*); ADRESA – autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora (eng. *autosomal dominant epilepsy with speech dyspraxia*); FFEVF – familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima (eng. *familial focal epilepsy with variable foci*); FMTLE – familijarna meziotemporalna epilepsija (eng. *familial mesial temporal lobe epilepsy*); SeLNE – samoograničena neonatalna epilepsija (eng. *self-limited neonatal epilepsy*), SeLNIE – samoograničena neonatalna/infantilna epilepsija (eng. *self-limited neonatal/infantile epilepsy*) i SeLIE – samoograničena infantilna epilepsija (eng. *self-limited infantile epilepsy*)

Postoji i više retkih sindroma koji nisu uvršteni u dosadašnje klasifikacije epileptičkih sindroma. Takve su npr. autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora (eng. *autosomal dominant rolandic epilepsy and speech dyspraxia*, ADRESA) i familijarna epilepsija mezijalnog temporalnog režnja (eng. *familial mesial temporal lobe epilepsy*, FMTLE). Među ovim oboljenjima često postoje velika fenotipska i genotipska preklapanja (Slika 21) (Baldassari et al., 2016). Detaljan pregled kliničke slike i genetske osnove ovih oboljenja je dat u narednim odeljcima.



Slika 21 Monogenne fokalne epilepsije, adaptirano iz Baldassari et al. 2016.

### 1.5.1 Samoograničene neonatalne i infantilne fokalne epilepsije

Spektar samoograničenih fokalnih neonatalnih i infantilnih epilepsija obuhvata tri delimično preklapajuća kliničko-genetska entiteta – samoograničenu neonatalnu epilepsiju (eng. *self-limited neonatal epilepsy*, SeLNE), samoograničenu neonatalnu/infantilnu epilepsiju (eng. *self-limited neonatal/infantile epilepsy*, SeLNIE) i samoograničenu infantilnu epilepsiju (eng. *self-limited infantile epilepsy*, SeLIE). Ova oboljenja su usled nepotpunog razumevanja njihove prirode i etiologije ranije označavana kao benigne familijarne neonatalne konvulzije ili benigne familijarne infantilne konvulzije ili epilepsija. Precizno mapiranje genetske podloge ovih oboljenja dovelo je do boljeg razumevanja kliničkih nijansi koje ih međusobno razlikuju, što se ogleda i u novoj Klasifikaciji i definiciji epileptičkih sindroma ILAE iz 2022, u koju su one uključene kao tri odvojena entiteta (Zuberi et al., 2022).

Radi se o grupi retkih oboljenja koja se nasleđuju po autozomno dominantnom obrascu sa penetrantnošću od oko 85% (Leppert et al., 1989), ali mogu nastati i usled *de novo* varijanta u nefamilijarnim slučajevima (L. R. F. Claes et al., 2004; Yang et al., 2020). Početak bolesti je strogo determinisan (Tabela 8). Kod oko 80% novorođenčadi sa SeLNE napadi počinju drugog ili trećeg dana po rođenju sa izuzetkom prevremeno rođene dece kod kojih počinju dva do tri dana nakon predviđenog termina porođaja. Ovo sugerise da je neophodno postizanje određenog stepena maturacije da bi došlo do ekspresije bolesti. Nasuprot napadima kod hipoksičko-ishemijske encefalopatije, u SeLNE napadi nikad ne počinju neposredno po rođenju (Ronen et al., 1993). Za porodice sa SeLNIE je karakterističan različit početak bolesti kod različitih članova. Većina obolelih kod sva tri sindroma ulazi u spontanu remisiju najkasnije do 12 meseci od početka bolesti, ali se kod manjeg dela obolelih mogu javiti rekurentni napadi kasnije u toku života (Grinton et al., 2015; Okumura et al., 2006). Rekurenca napada se može javiti u vidu febrilnih napada, SeLECTS ili retkih spontanih napada (Grinton et al., 2015). Psihomotorni razvoj je po pravilu normalan.

Napadi u okviru ovih sindroma se javljaju nevezano od febrilnosti, često u klasterima napada koji traju od nekoliko sati do nekoliko dana. Za SeLNE i SeLNIE su karakteristični fokalni tonički ili klonički napadi tipično sa alternacijom strana koji mogu biti praćeni i automotornim i autonomnim semiološkim elementima. Obično su dužeg trajanja od napada u strukturnim ili metaboličkim poremećajima u ovom uzrastu i obično traju nekoliko minuta. Dok se kod SeLNE uglavnom javljaju fokalni napadi bez dalje evolucije, kod SeLNIE oni tipično evoluiraju u bilateralne motorne napade (Caraballo et al., 2003; Grinton et al., 2015; Ronen et al., 1993). Kod nekih obolelih od SeLNE se tokom života mogu javiti i miokimije (Dedek et al., 2001).

Kod SeLIE u napadima dominiraju gubitak svesti, automatizmi i autonomni fenomeni, ali se mogu javiti i motorni napadi slični kao kod SeLNE i SeLNIE (Caraballo et al., 2003). Klinički spektar SeLIE obuhvata i sindrom infantilnih konvulzija sa horeoatetozom u kome se javljaju paroksizmalne kineziogene diskinezije. Kod nekih članova porodice se mogu javiti izolovano epilepsija ili nevoljni pokreti ili se oni mogu javiti udruženo. (Szepetowski et al., 1997).

EEG nalaz može biti normalan ili se u njemu mogu naći fokalne epileptiformne promene (Flesler et al., 2010; Herlenius et al., 2007; Sands et al., 2016) ili nespcifični uzrasno zavisni obrasci poput *theta pointu alternans* kod SeLNE (Sands et al., 2016). Osnovna aktivnost je po pravilu normalna i pojava usporenja osnovne aktivnosti ili kontinuiranih fokalnih usporenja, *burst suppression* obrazac ili hipsaritmija zahtevaju razmatranje alternativne dijagnoze. Slično tome, MR mozga je po pravilu normalan i u klinički tipičnim slučajevima, pogotovu onim sa pozitivnom porodičnom anamnezom po tipu autozomno dominantnog oboljenja sa nepotpunom penetrantnošću ili dokazanom varijantom u očekivanim genima, nije obavezan deo dijagnostičkog postupka.



Tabela 8 Karakteristike sindroma samoograničenih fokalnih epilepsija u neonatnom i infantilnom periodu

	SeLNE	SeLNIE	SeLIE
Incidencija (na 100 000 živorođenih)	5,3 <sup>1</sup>	Nepoznata	14,2 <sup>1</sup>
Početak bolesti	Od drugog do sedmog dana (korigovano za gestacijsku starost od 40 nedelja kod prematurusa) <sup>2,3</sup>	Od drugog dana do 23. meseca (prosečno 11. nedelja) <sup>9</sup>	Od trećeg do 20. meseca (najčešće oko šestog meseca) <sup>14</sup>
Fokalni napadi	Tonički ili klonički <sup>2,3</sup>	Tonički ili klonički <sup>10</sup>	Pomućenje svesti, automatizmi, autonomni fenomeni, klonočki i tonički fenomeni <sup>15</sup>
Evolucija u bilateralne motorne napade	Moguća <sup>2,3</sup>	Tipična <sup>10</sup>	Moguća <sup>15</sup>
Trajanje napada	Nekoliko minuta <sup>2,3</sup>	20s – 4min <sup>10</sup>	< 3min <sup>15</sup>
Terapija	Često nepotrebna <sup>2,3</sup>	Često nepotrebna <sup>10</sup>	Obično potrebna, nekad rezistentni <sup>14</sup>
Interiktalni EEG	C, CT, FT, <i>theta pointu alternans</i> <sup>4</sup>	P, CP <sup>11</sup>	Obično normalan, retko C <sup>16</sup>
Iktalni EEG	CT <sup>4</sup>	P <sup>11</sup>	TP <sup>17</sup>
Vreme remisije	Do šestog meseca (tipično šeste nedelje) <sup>2,3</sup>	Do 12-24. meseca <sup>10</sup>	U prvih 12 meseci od postavljanja dijagnoze <sup>14</sup>
Kasnija rekurencija napada	Rekurencija kod 30% obolelih <sup>2,3</sup> *miokimije <sup>5</sup>	Bez rekurencije napada <sup>10</sup>	Retko * paroksizmalne kineziogene diskinezije <sup>18</sup>
Geni	<i>KCNQ2</i> (80%) <sup>2,6,7</sup> <i>KCNQ3</i> (<5%) <sup>8</sup>	<i>SCN2A</i> <sup>12</sup> , <i>KCNQ2</i> <sup>13</sup>	<i>PRRT2</i> (70%), <i>SCN8A</i> (retko) <sup>6</sup>

C – centralno; CT – centrotemporalno; FT – frontotemporalno; TP – temporoparijetalno; P – parijetalno; CP – centroparijetalno; 1 Symonds et al., 2021; 2 Ronen et al., 1993; 3 Grinton et al., 2015; 4 Sands et al., 2016; 5 Dedek et al., 2001; 6 Symonds et al., 2021; 7 Heron et al., 2007; 8 Miceli et al., 1993; 9 Samuel F. Berkovic et al., 2004a; 10 Kaplan and Lacey, 1983; 11 Herlenius et al., 2007; 12 Heron et al., 2002; 13 Zara et al., 2013; 14 Okumura et al., 2006 15 Caraballo et al., 2003; 16 Bureau et al., 2002 17 Vigevano, 2005 18 Heron and Dibbens, 2013

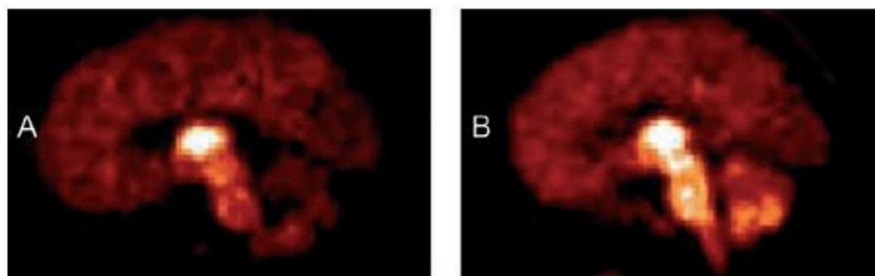
Genetsko testiranje je korisno za potvrdu dijagnoze i otkriva varijantu u genima kandidatima kod skoro 90% obolelih (Zara et al., 2013). Među sva tri entiteta, SeLIE ima najveću genetsku heterogenost iako i do 70% obolelih ima varijantu u *PRRT2*. Važno je napomenuti da su varijante u *KCNQ2* i *SCN2A* genima opisane i u teškim epileptičkih sindromima poput EIDEE.

Do danas ne postoje striktno terapijske smernice, a s obzirom na brzu spontanu remisiju kod mnogih pacijenta AEL nije neophodna. Među uspešno korišćenom AEL su fenobarbiton, valproat, midazolam i klonazepam. U skorije vreme je pokazana i uspešna upotreba karbamazepina kod obolelih sa varijantama u kalijumskim kanalima. Hipotetisano je da je efikasnost karbamazepina posledica blokade natijumskih kanala kolokalizovanih na inicijalnom segmentu aksonskog brežuljka sa mutiranim kalijumskim kanalom, što rezultira inhibicijom generisanja akcionog potencijala (Pan et al., 2006). Kod većine pacijenta je terapiju moguće isključiti nakon nekoliko meseci.

### 1.5.2 Autozomno dominantna hipermotorna epilepsija u spavanju (ADSHE)

Hipermotorna epilepsija u spavanju (eng. *sleep related hypermotor epilepsy*, SHE) je klinički entitet kojeg karakterišu klasteri kratkih hipermotornih napada u toku non-REM spavanja. Javlja se kao sporadična i familijarna bolest. Prevalencijom sporadične forme bolesti od oko 1,8-1,9/100 000 (Vignatelli et al., 2015), dok je familijarna forma daleko ređa.

ADSHE je familijarna forma bolesti, koja se nasleđuje po autozomno dominantnom obrascu sa penetrantnošću od 70% (Scheffer et al., 1995a). Do sada je u svetu identifikovano preko stotinu ADSHE porodica, ali je prevalencija ADSHE i dalje nepoznata. Prvi gen sa kojim je povezano ovo oboljenje bio je *CHRNA4* koji kodira subjedinicu nikotinskog receptora (Steinlein et al., 1995). Ubrzo potom su opisane i varijante u genima iz iste familije, *CHRNA2* i *CHRNA2* (Aridon et al., 2006; De Fusco et al., 2000) sa kojima je povezan isti fenotip (McLellan et al., 2003). Tokom poslednjih decenija u ovoj bolesti su otkrivene varijante i u drugim genima, kao što je *KCNT1* sa kojim je povezana teška forma bolesti praćena sa IO i psihozom. Varijante u ovom genu imaju kompletnu penetrantnost, za razliku od varijanti u genima za subjedinice nikotinskog receptora (Heron et al., 2012). Varijante u *DEPDC5* i ređe *NPRL2* i *NPRL3* mogu biti povezane sa ADSHE udruženom sa FCD i drugim malformacijama kortikalnog razvoja (Picard et al., 2014), što može imati implikacije po hirurško lečenje farmakorezistentnih slučajeva, koji su kod ovih varijanti česti (Stevellink et al., 2018). Sindrom se može javiti i udružen sa *de novo* varijantama (Bertrand et al., 2005; Phillips et al., 2001; Sansoni et al., 2012). Anegdotalno su opisane i porodice sa autozomno dominantnom *CRH* varijantom, kao i retke porodice sa autozomno recesivnim obrascem nasleđivanja među kojima je opisana varijante u *PRIMA1* genu (Hildebrand et al., 2015).



Slika 22 [18F]-F-A-85380 PET mozga kod zdrave kontrole (A) i osobe sa SHE (B) adaptirano iz Picard et al., 2006

Opisane patogene varijante u subjedinicama acetil-holinškog receptora dovode do povećane osetljivosti na acetil-holin što za posledicu ima povećanu aktivnost holinergičke signalizacije. Studije su upotrebom pozitronske emisione tomografije (PET) su pokazale hiperaktivaciju ascendentnih holinergičkih projekcija iz moždanog stabla (Slika 22) (Picard et al., 2006). Ove projekcije su uključene u modulaciju spavanja i razbuđivanja na kortikalnom i talamičkom nivou. Napadi se kod mnogih SHE pacijenata javljaju pseudoperiodično na svakih 20-40s tokom nestabilnog non-REM spavanja sa intenzivnim cikličnim mikrorazbuđivanjima (Parrino et al., 2006; Sforza et al., 1993).

Oko trećina obolelih ima non-REM parasomnije kao što su somnambulizam, *pavor nocturnus* i konfuzno razbuđivanje koje prethode pojavi epilepsije i često ulaze u spontanu remisiju više godina pre pojave epileptičkih napada (Provini et al., 1999). Šta više, kod trećine članova porodice osoba sa SHE su opisane non-REM parasomnije (Bisulli et al., 2010; Provini et al., 1999). Oko četvrtina obolelih ima pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju koja je klinički najčešće fokalna epilepsija bez drugih osobenosti. Iz svega navedenog se može zaključiti da je disfunkcija holinergičke regulacije razbuđivanja u osnovi epilepsije kod SHE kao i srodnih poremećaja spavanja.

Bolest najčešće počinje u drugoj deceniji života, ali su prijavljeni i slučajevi sa ranijim i kasnijim početkom (Nobili et al., 2014; Oldani et al., 1998; Scheffer et al., 1994). Napadi su učestali, kod nekih pacijenata i svakodnevni, često sa noćnim klasterima (Provini et al., 1999). Učestalost napada opada sa starenjem (Picard et al., 2006). Postoji više semioloških tipova napada tipičnih za SHE. Najčešći su hipermotori napadi, po kojima je sindrom dobio i ime. Ovi napadi tipično traju 10-20 s, najviše do 2 minuta i semiološki mogu biti i hiperkinetički i asimetrični toničko-distonični sa disautonomnim fenomenima (Tinuper et al., 2016). Karakteriše ih nagli početak i kraj. Svest u toku napada je očuvana. Drugi tip napada su tzv. *epileptička noćturnalna lutanja* u kojima dominira ambulatorno automotorno ponašanje sa ustajanjem iz kreveta i besciljnim lutanjem koje može

podsećati na somnambulizam. Često su praćene psihomotornom agitacijom. Ovakve epizode mogu trajati 2-4 min (Plazzi et al., 1995). Treća vrsta napada su tzv. *paroksizmalna razbuđivanja* praćena otvaranjem očiju, odizanjem glave ili ruke od postelje ili distoničnom posturalnošću šake ili stopala koja traju 1-3 s. Epizode su visokostereotipne. Pacijenti ih često nisu svesni i posle njih nastavljaju da spavaju (Nobili et al., 2014). Priroda ovih epizoda nije u potpunosti razjašnjena, ali je aktuelni ekspertski konsenzus da se radi o suptilnim epileptičkim napadima. Mogu se javiti i fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne motorne napade (Provini et al., 1999). Napadi se javljaju tokom non-REM spavanja i to tokom I i II faze spavanja u preko 2/3 slučajeva. Napadi u toku budnosti se javljaju kod skoro polovine obolelih (Licchetta et al., 2017; Provini et al., 1999; Scheffer et al., 1995a).

Osnovna EEG aktivnost je normalna. Interiktalni EEG je epileptiformno izmenjen kod oko 2/3 obolelih. Epileptiformne promene se najčešće viđaju u spavanju (Licchetta et al., 2017). Šiljci su obično lokalizovani nad frontalnim regionima (Provini et al., 1999). U preko pola napada nema vidljivog iktalnog ritma, a EEG je zaklonjen obiljem mišićnih artefakata (Licchetta et al., 2017). Najčešći iktalni obrazac je fokalna atenuacija osnovnih ritmova ili pojava teta ili delta iktalnog ritma. Svega 10% ima repetitivne šiljke i još 10% paroksizmalnu brzu aktivnost (Provini et al., 1999). Postiktalno usporenje osnovnih ritmova je često jedina vidljiva EEG izmena (Gibbs et al., 2019). MR snimak mozga je normalan. Retko se mogu detektovati malformacije kortikalnog razvoja poput FCD, najčešće vezano za *DEPDC5* varijante (Picard et al., 2014). Genetsko testiranje ima mali dijagnostički prinos. Patogenu gensku varijantu je moguće detektovati kod oko 19% familijarnih i 7% sporadičnih slučajeva (Licchetta et al., 2020).

Karbamazepin i okskarbazepin dovode do nekompetitivne inhibicije mutiranog nikotinskog kanala (Di Resta et al., 2010; Picard et al., 1999). Zbog toga je bolest potpuno kontrolisana kod preko 70% obolelih sa svega 200 mg karbamazepina u večernjoj dozi (Provini et al., 1999). Međutim, neke varijante, poput p.Ser284Leu *CHRNA4* varijante imaju samo delimičan odgovor na karbamazepin (Ito et al., 2000), dok se kod obolelih sa varijantama u *DEPDC5* genu FRE javlja u skoro 80% slučajeva (Picard et al., 2014). Topiramamat je takođe pokazan kao visokoeфикасна terapijska opcija sa punom remisijom kod 90% obolelih u jednoj studiji (Oldani et al., 2006). Ipak, oko 1/3 obolelih ima FRE kod koje je moguće razmotriti druge terapijske opcije, poput hirurgije epilepsije, pogotovu kod onih sa udruženim malformacijama kortikalnog razvoja. Dugoročnu terminalnu remisiju postiže svega 22% obolelih od ovog sindroma. (Licchetta et al., 2017). Mnogi pacijenti koji imaju samo noćne napade odbijaju antiepileptičke lekove.

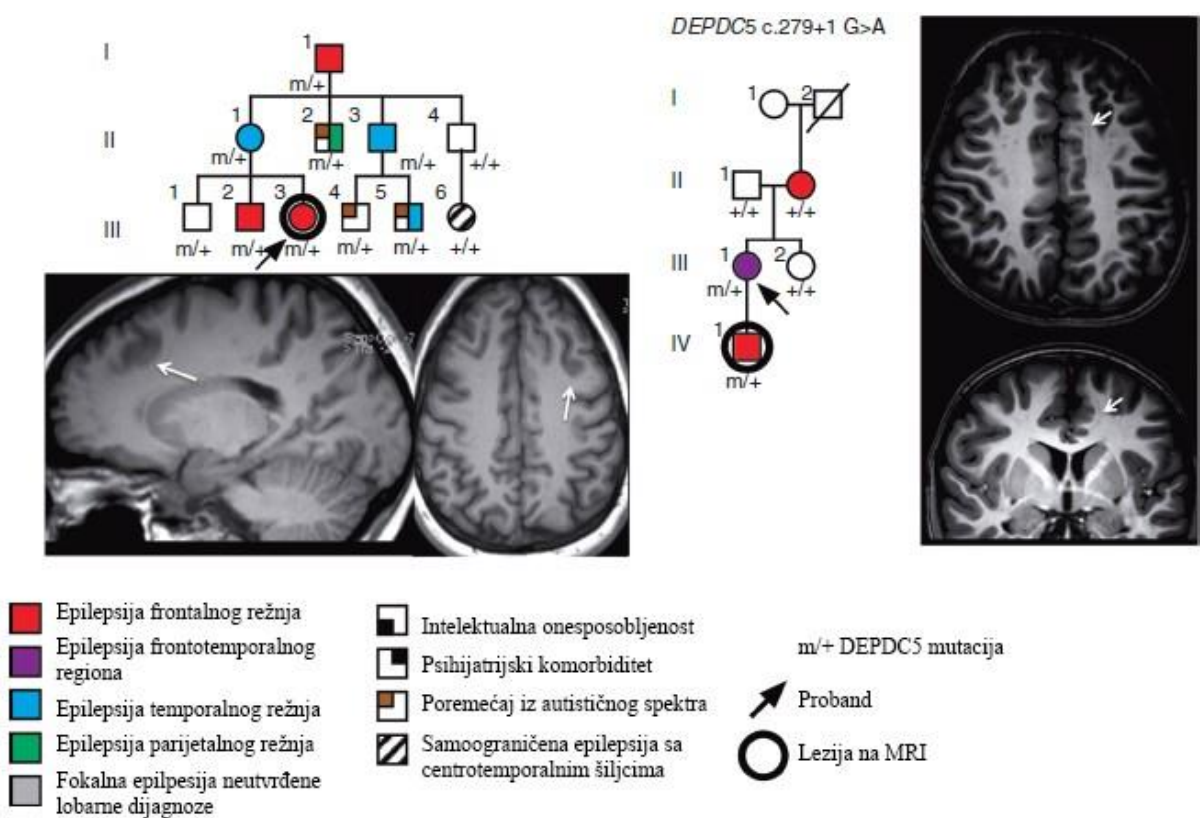
### 1.5.3 Familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima (FFEVF)

Familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima je sindrom fokalne epilepsije za koju je tipična pojava različitih elektro-kliničkih sindroma kod članova iste familije. Bolest se nasleđuje autozomno dominantno uz penetrantnost od oko 60%. (Dibbens et al., 2013; Ishida et al., 2013). Precizni epidemiološki podaci ne postoje, ali se smatra retkim oboljenjem. Najčešće počinje u prvoj ili drugoj deceniji života, ali su opisani pacijenti sa početkom u svim uzrasnim periodima, pa čak i neonatalnom dobu (Klein et al., 2012; Scheffer et al., 1998).

Nasuprot ADSHE koja je u velikoj meri klinički homogen entitet, glavna osobina porodica sa FFEVF je izražena fenotipska varijabilnost između obolelih (Slika 23). Zbog toga se dijagnoza FFEVF ne može postaviti na nivou individualnog pacijenta, već samo na nivou familije. Članovi iste familije mogu imati početak bolesti u različitom uzrastu, različit odgovor na AEL kao i različit nalaz na MR mozga i elektro-klinički sindrom. Svaki oboleli ima napade, EEG i neuroradiološki nalaz koji odgovara lokalizaciji njegove epileptogene mreže. Bolest najčešće izgleda kao sindromski uobičajena epilepsija frontalnog ili temporalnog režnja, ali se može javiti i kao epilepsija parijetalnog ili okcipitalnog režnja ili pericentralnog regiona. (Klein et al., 2012). U okviru iste familije se mogu javiti i članovi čija bolest klinički odgovara SHE (Samuel F. Berkovic et al., 2004b).

Psihomotorni razvoj je normalan kod najvećeg broja pacijenata, ali postoje anegdotalni opisi obolelih sa blagom IO, PAS ili psihijatrijskim poremećajima poput opsesivno-kompulsivnog poremećaja ili psihoze (Callenbach et al., 2003; Klein et al., 2012; Scheffer et al., 2014). Težina epilepsije se javlja u čitavom spektru od blage farmkosenzitivne do teške FRE sa velikim opterećenjem napadima. Pacijenti sa vidljivim strukturnim lezijama mogu dobiti hirurški kandidati, a operativno lečenje često prevodi FRE u potpunu remisiju (Stevelinck et al., 2018).

Više studija je pokazalo povećanu incidenciju SUDEP u familijama obolelih sa prisutnim varijantama u genima GATOR1 kompleksa koja je dostizala i 10% obolelih (Baldassari et al., 2019a; Nascimento et al., 2015; Weckhuysen et al., 2016). Šta više, u studijama SUDEP su nađene verovatno patogene varijante u ovim genima (Bagnall et al., 2016). Patogenetski mehanizam ove povezanosti je i dalje nerazjašnjen i zahteva dalje ispitivanje.



Slika 23 Pedigre dve familije sa FFEVF i MR mozga koji prikazuje malformacije kortikalnog razvoja; A Pedigre australijske familije sa *DEPDC5* c.21C>G (p.Tyr7\*) varijantom i MR jednog od članova na kome je vidljiva FCD tip IIb na dnu sulcus frontalis superior; B Pedigre italijanske familije sa *DEPDC5* c.279+1G>A varijantom i vidljivim zamagljenjem kortikomedulane granice male zone cingularnog korteksa i diskretna trakasta heterotopija sive mase u neposrednoj blizini displastičnog korteksa, adaptirano iz Scheffer et al., 2014

Napadi u ovoj bolesti su fokalni i semiološki odgovaraju lokalizaciji epileptogene mreže. Mogu se javljati u budnosti i u spavanju, bez predilekcije za pojavu tokom febrilnosti. Mogu se javiti i fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne motorne napade.

Osnovna EEG aktivnost je normalna sa fokalnim interiktalnim epileptiformnim pražnjenjima. Pražnjenja su učestalija u spavanju. Iktalni EEG odgovara lobarnom sindromu. MR mozga je najčešće normalan, ali se može javiti i čitav spektar malformacija kortikalnog razvoja, od grubih poremećaja poput hemimegalencefalije do diskretnih kortikalnih displazija. Najčešći MR nalaz je FCD tip II (Baulac et al., 2015; Scheffer et al., 2014).

Heterozigotne patogene varijante u komponentama genima GATOR1 kompleksa (*DEPDC5*, *NPRL2* i *NPRL3*) su opisane u ovim familijama i mogu služiti za potvrdu dijagnoze. *De novo*

patogene varijante su česte, ali je njihova tačna proporcija u odnosu na nasleđene varijante nepoznata. Veliki broj patogenih varijanti je opisan u različitim segmentima gena. Većina obolelih sa malformacijama kortikalnog razvoja ima *nonsense* ili *frameshift* varijante koje dovode do prevremenog stop kodona, skraćanja peptida ili *nonsense*-posredovane degradacije RNK (eng. *nonsense-mediated decay*, NMD). *Missense* varijante su povezane sa blažim histološkim izmenama i tipično su bez vidljive lezije na MR mozga (Ishida et al., 2013; Picard et al., 2014).

Ne postoje dokazi koji bi favorizovali primenu bilo kog antiepileptičkog leka. FRE se javlja kod čak i do 50% obolelih (Baldassari et al., 2019a) među kojima su mnogi dobri hirurški kandidati, pogotovo ako imaju vidljivu leziju na MR mozga (Stevellink et al., 2018). Varijante u *DEPDC5* su češće povezane sa FRE (Wolking et al., 2021). Veliki terapijski potencijal se očekuje od primene mTOR inhibitora kao što je everolimus koji je već odobren za lečenje FRE kod prototipske mTORopatije, TSC (French et al., 2016), međutim upotreba ovih lekova u mTORopatijama zahteva dalje ispitivanje.

#### 1.5.4 Autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima (ADEF)

Epilepsija sa auditornim fenomenima je fokalna epilepsija koju karakteriše pojava fokalnih napada bez pomućenja svesti i prisutnim auditornim fenomenima ili receptivnom afazijom. Napadi mogu biti precipitirani zvukom. Prevalencija je nepoznata ali se smatra retkim oboljenjem. Može se javiti kao familijarna autozomno dominantna (ADEF) ili sporadična bolest. Opisano je preko 100 porodica sa ADEF među kojima je polovina povezana sa varijantama u *LGII* i *RELN* genu (Ottman et al., 2004).

Oboljenje je prvobitno povezano sa varijantama u *LGII* genu (Kalachikov et al., 2002; Morante-Redolat et al., 2002), a potom i *RELN* (Dazzo et al., 2015) i *MICAL-1* (Dazzo et al., 2018). Interesantno je istaći da je *RELN* gen ranije povezanim sa autozomno recesivnim poremećajem neuronalne migracije u okviru kojeg se javljaju epilepsija sa lizencefalijom i cerebelarna hipoplazija (Hong et al., 2000). U *LGII* genu je opisano preko 40 varijanti sa kojima je povezano oko 30% ADEF familija (Michelucci et al., 2013). *De novo* varijante u *LGII* genu su otkrivene kod oko 2% sporadičnih slučajeva (Nobile et al., 2009). Varijante u *RELN* genu su povezane sa oko 20% familija sa ADEF, dok su *MICAL-1* varijante prijavljene u svega nekoliko porodica. Penetrantnost *LGII* varijanti je oko 67% (Rosanoff and Ottman, 2008), ali su opisne i one sa penetrantnošću ispod 50% (Di Bonaventura et al., 2011). Penetrantnost *RELN* varijanti je za sad nepoznata, ali je verovatno slična *LGII* varijantama (Dazzo et al., 2015).

*LGII* je prvi gen povezan sa epilepsijom koji ne pripada familiji jonskih kanala, ali je sa njima u bliskoj funkcionalnoj vezi. Dominantno je eksprimiran na glutamatergičkim neuronima gde verovatno reguliše AMPA sinaptičke struje i inaktivaciju voltažno zavisnih Kv1.1 kalijumskih kanala. Patogene varijante su LOF tipa i dovode ili do smanjene sekrecije proteinskog produkta (označenog kao Lgi1) ili onemogućavaju interakcije sa drugim signalnim proteinima (Zhou et al., 2009). Interesantno je da je jedina zajednička karakteristika Lgi1 i relina (proteinski produkt *RELN* gena) to što su oba sekretorni proteini. Pretpostavlja se da je do sada nepoznat funkcionalni puta zajednički za oba molekula u osnovi patogeneze ovog oboljenja (Michelucci and Nobile, 2019).

Početak bolesti je tipično u drugoj ili trećoj deceniji. Psihomotorni razvoj i neurološki nalaz su normalni. Epilepsija je obično blaga ali su opisni i slučajevi teške FRE (Di Bonaventura et al., 2009). Oboleli sa FRE mogu biti dobri hirurški kandidati. Kumulativna stopa terminalne remisije je 50% 30 godina po postavljanju dijagnoze (Bisulli et al., 2018).

Napadi su fokalni i počinju auditornim fenomenima kod oko 2/3 obolelih, ali se mogu javiti i u vidu receptivne afazije, kompleksnih vizuelnih, vertiginoznih, autonomnih, senzitivnih ili psihičkih fenomena. Epileptogena mreža je verovatno locirana u regiji Heschl-ovih girusa ili Wernicke-ove

aree dominantne hemisfere. Evolucija u bilateralne motorne napade je česta i javlja se kod skoro 90% obolelih (Michelucci et al., 2013). Auditorni fenomeni su najčešće prosti u vidu zujanja ili pištanja ili auditornih distorzija poput alteracije jačine zvuka (Kobayashi et al., 2003a; Winawer et al., 2000). Kompleksni fenomeni poput glasova ili muzike javljaju kod oko 15% obolelih, dok su negativni auditorni fenomeni poput nestanka ambijentalnog zvuka opisani kod oko 10%. Auditorni okidač za pojavu napada, u vidu javljanja na telefon ili ulaska u bučnu prostoriju postoji, opisan je kod 20% obolelih (Michelucci et al., 2013, 2003). Kod pacijenta sa napadima bez oštećenja svesti bolest dugo ostaje neprepoznata, a dijagnoza se često postavlja tek po pojavi prvog bilateralnog toničko-kloničkog napada.

U interiktalnom EEG se beleže šiljci ili oštri talasi kod oko 60% obolelih sa predilekcijom za levu hemisferu (Di Bonaventura et al., 2009). MR mozga je normalan. Genetsko testiranje na varijante u *LGII*, *RELN* i *MICAL-1* je pozitivno kod oko 60% familijarnih slučajeva. Anegdotalno su prijavljene i patogene varijante u *DEPDC5*, *CNTNAP2* i *SCN1A* (Pippucci et al., 2015).

Epilepsija je najčešće dobro kontrolisana antiepileptičkim lekovima, ali su opisani i farmakorezistentni slučajevi. Rekurentni napadi se javljaju kod polovine obolelih nakon isključivanja AEL. Specifična terapija ne postoji (Michelucci and Nobile, 2019).

#### 1.5.5 Familijarna meziotemporalna epilepsija (FMTLE)

Meziotemporalna epilepsija (eng. *mesial temporal lobe epilepsy*, MTLE) je najčešći elektroklinički epileptički sindrom kod odraslih, a HS je najčešća patološka lezija udružena sa njim. MTLE se tradicionalno smatra stečenim oboljenjem, međutim sve više dokaza sugerise veliki kauzalni upliv genetskih faktora. Opisano je više formi familijarne MTLE, među kojima su forme sa kompleksnim nasleđivanjem česte, a monogenske forme bolesti retke. Familijarna forma bolesti sa autozomno dominantnim nasleđivanjem i nepotpunom penetrantnošću je prvobitno opisana u blizanačkim studijama, a potom i većim familijarnim agregatima (Berkovic et al., 1996). Ipak, ovaj sindrom nije uvršćen u ILAE Klasifikaciju epileptičkih sindroma iz 2022. (Riney et al., 2022), uprkos prisustvu u ranijim predlozima (Engel, 2001). Bolest je klinički teško razlikovati od sporadične forme, te je postavljanje dijagnoze FMTLE jedino moguće pomoću detaljne porodične anamneze u kojoj postoje barem dva srodnika obolela od MTLE (Gambardella et al., 2009). Verovatno je zbog toga među obolelima od sporadične MTLE značajan broj onih sa genetskom etiologijom bolesti. Prevalencija oboljenja je nepoznata, ali je u jednoj skorijoj studiji pokazano da skoro 20% novodijagnostikovanih pacijenta sa MTLE ima obolele srodnike (Perucca et al., 2017a).

Klasična forma FMTLE je relativno benignan sindrom sa početkom u drugoj ili trećoj deceniji. Febrilni napadi se javljaju sa istom učestalošću kao i u opštoj populaciji. Napadi su tipično u formi fokalnih napada bez pomućenja svesti i prisutnim dismnestičkim fenomenima, ali se mogu javiti i perceptivne distorzije, strah i autonomni fenomeni. Teži napadi sa oštećenjem svesti, a pogotovu napadi sa evolucijom u bilateralne motorne napade, su izuzetno retki. Uz to, MR i EEG su najčešće normalni, tako da je postavljanje dijagnoze epilepsije teško i moguće je da je veliki broj pacijenata neprepoznato. Bolest je tipično farmakosenzitivna, a mnogi oboleli ulaze u sponatnu remisiju (Berkovic et al., 1996; Crompton et al., 2010). Genetska etiologija je i dalje neutvrđena. Anegdotalna povezanost sa Chr4q13.2-q21.3 lokusom (Hedera et al., 2007) i varijantom u *GAL* genu (Guipponi et al., 2015) je opisana u pojedinačnim pedigreima, ali ovi rezultati nisu replikovani u drugim studijama.

Kobayashi i sar. su opisali familije sa FMTLE među kojima su neki imali udruženu HS (Kobayashi et al., 2003b). Među obolelima je postojala velika fenotipska varijabilnost u težini bolesti, odgovoru na farmakoterapiju, pojavi febrilnih napada u detinjstvu i MR nalazu. Febrilne napade je imalo približno 10% obolelih, što je značajno češće u odnosu na opštu populaciju u kojoj se ona javljaju kod 2,3-3,9% osoba (Hauser and Kurland, 1975; Verity et al., 1985). Ipak, ovo je značajno ređe nego što je opisano u hirurškim kohortama pacijenta sa FRE gde je oko trećina obolelih imala

febrilne napade u detinjstvu (Cendes et al., 1993; Kuks et al., 1993; Rocca et al., 1987). Početak bolesti je bio raniji, u prvoj ili drugoj deceniji života. Napadi su najčešće fokalni napadi sa pomućenjem svesti i automatizmima i relativno retkom evolucijom u bilateralne motorne napade, kao što se tipično viđa kod sporadične MTLE. Većina obolelih je imala benignan tok bolesti, ali je kod trećine postojala FRE i to najčešće kod onih kod kojih je bolest bila udružena sa HS. Interesantno je istaći da su i među zdravim članovima familija nađeni znaci hipokampalne skleroze na MR mozga, ali je ona bila češća sa izraženijim patološkim znacima na MR među obolelim članovima. Patohistološki nalaz kod hirurški lečenih pacijenata sa FMTLE i HS ne pokazuje nikakve histološke razlike u HS u odnosu na pacijente sa sporadičnom MTLE (Gambardella et al., 2009).

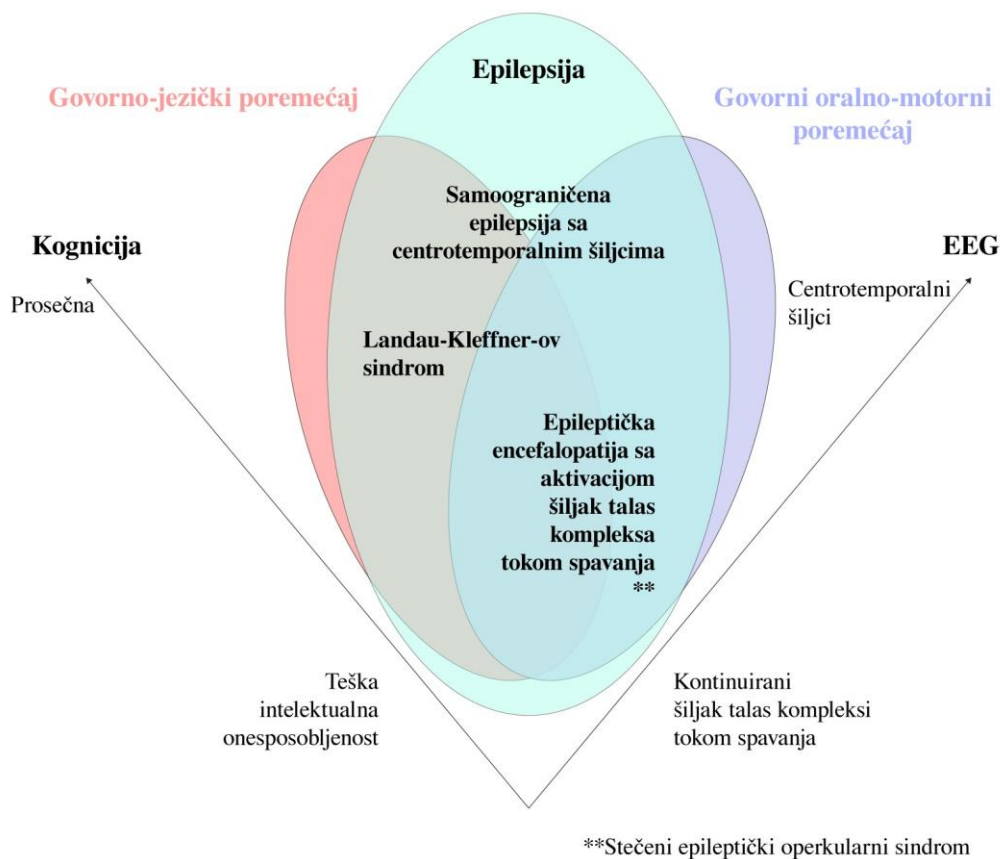
Posebno je interesantan odnos febrilnih napada i FMTLE. Opisane su dve velike familije sa FMTLE i febrilnim napadima bez HS (Baulac et al., 2001; L. Claes et al., 2004). Slično kao u slučaju FMTLE sa HS, početak epilepsije je bio u prvoj ili drugoj deceniji života, a napadi su bili fokalni sa pomućenjem svesti i automatizmima i često evolucijom u bilateralne motorne napade (Baulac et al., 2001; Depondt et al., 2002). Ipak, oboleli su imali bolju prognozu bolesti bez FRE, često sa spontanom remisijom. U jednoj od njih je identifikovan asociirani lokus na Chr 12q22-q23.3 koji obuhvata 280 gena među kojima nema do danas identifikovanih gena povezanih sa epilepsijom. Isti lokus je potvrđen u kasnijim studijama kod pacijenata sa FMTLE (Gurnett et al., 2007), kao i kod jednog pacijenta sa *de novo* varijantom (Vari et al., 2017).

Varijante u genima za natrijumske kanale, *SCN1A* i *SCN1B*, su takođe povezane sa FMTLE kod koje tipično postoje i febrilni napadi i HS kod različitih članova familije (Colosimo et al., 2007; Scheffer et al., 2007). *DEPDC5* varijante su opisane u čitavom spektru familijarnih fokalnih epilepsija, uključujući i FMTLE (Ishida et al., 2013; Striano et al., 2015). Ipak, neophodan je oprez pri interpretaciji pedigreea sa *DEPDC5* varijantama. Kako se FFEVF često klinički ispoljava kao MTLE, pedigreei sa malo obolelih članova se mogu shvatiti kao FMTLE. Naknadnim otkrivanjem novih članova sa epilepsijom drugih elektro-kliničkih sindroma može promeniti dijagnozu iz FMTLE u FFEVF (Ishida et al., 2013).

#### 1.5.6 Autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora (ADRESD)

Autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora je redak entitet sa i dalje nedefinisanim pozicijom u sistematizaciji epileptičkih sindroma. Sindrom nije uključen u Klasifikaciju epileptičkih sindroma ILAE iz 2022. (Specchio et al., 2022). Pripada epilepsija-afazija spektru bolesti u kome su na jednom kraju teški sindromi poput D/EE-SWAS i LKS, a na drugom SeLECTS (Slika 24).

Prvi opisani slučajevi su bili u velikoj australijskoj familiji (Scheffer et al., 1995b), ali je od tada opisano više pedigreea u različitim zemljama (Kugler et al., 2008; Michelucci et al., 2008; Roll et al., 2006). Zajedničko za sve pedigreee je izražena fenotipska varijabilnost sa različitim težinom bolesti kod različitih članova. Epileptički sindrom gotovo u potpunosti odgovara SeLECTS sa početkom bolesti u detinjstvu, tipično između tri i šest godina starosti, ali su opisani slučajevi od 1,5 do 10 godina. Napadi se najčešće javljaju iz spavanja sa perioralnim senzitivnim ili motornim fenomenima i izraženim baljenjem ali ređe mogu zahvatati i gornje ekstremitete. Može se javiti i evolucija u bilateralne motorne napade. Napadi su retki i epilepsija ulazi u spontanu remisiju kroz pet godina od početka bolesti, ali su opisani i perzistentni napadi u adultnom periodu (Kugler et al., 2008). Kognitivni razvoj je po pravilu uredan izuzev kod jednog člana prvobitnog pedigreea kod koga je opisana epileptička encefalopatija sa kognitivnom regresijom (Scheffer et al., 1995b). Karakterističan poremećaj govora se javlja kod svih obolelih i sastoji se od oralne i govorne dispraksije bez dizatrije, kao i poremećaja receptivnog govora i nominacije. U EEG se registruju horizontalni centrotemporalni šiljci sa pozitivnim polom nad frontalnim regionima, identični onim viđenim kod SeLECTS. MR nalaz je normalan (Scheffer et al., 1995b).



Slika 24 Epilepsija-afazija spektar, adaptirano iz Turner et al., 2015

Obrazac nasleđivanja pokazuje potpunu penetrantnost sa fenomenom anticipacije zbog kojeg je inicijalno razmatrano da se radi o bolesti trinukleotidnih ponovaka, što nije dokazano. *Missense* varijante u *GRIN2A* genu su dokazane u inicijalno opisanoj australijskoj porodici (Scheffer, 2000; Turner et al., 2015b) i jednoj francuskoj porodici sa istim fenotipom (Carvill et al., 2013). U istom genu se varijante identifikuju kod oko 10% obolelih od bolesti iz epilepsija-afazija spektra (Yang et al., 2018). U drugim pedigreima nisu dokazani uzročni geni.

## 1.6 Genetska arhitektonika fokalne epilepsije

### 1.6.1 Osnovi genetske epidemiologije epilepsije

Kao što je ranije pominjano, NGS je omogućio prikupljanje ogromne količine podataka iz individualnih genoma kako zdravih osoba, tako i osoba sa različitim oboljenjima. Posledično se rodila potreba za *genomikom* kao novom naučnom disciplinom koja bi izučavala genetiku bolesti sa bioinformatičkog aspekta. Najveći izazov u interpretaciji informacija u genomici leži u postojanju velike genetske varijabilnosti između osoba. Egzom svake osobe prosečno sadrži više hiljada genskih varijanti, od kojih su mnoge benigne i ne učestvuju u nastanku bolesti. Utvrđivanje kauzalne povezanosti novoindefikovane varijante sa bolešću zahteva rigoroznu i kritičnu evaluaciju različitih tipova dokaza, koji obuhvataju određivanje njene učestalosti u opštoj populaciji, segregaciju među obolelima u familijama sa više obolelih članova, kao i funkcionalno ispitivanje efekta koji varijanta ima na celularne procese u koje je uključen genski produkt (Richards et al., 2015).



Tabela 9 Studije u genetskoj epidemiologiji, adaptirano iz Ottman and Risch, 2012 i Winawer, 2006

Dizajn studije	Cilj	Metodologija	Interpretacija
Studije Familijarne agregacije	Utvrđivanje familijarnog grupisanja karakteristike ili fenotipa	Poređenje učestalosti oboljenja među srođnicima obolelih i u opštoj populaciju ili kontrolnoj grupi	Postojanje familijarne agregacije sugerise učešće genetskih faktora u nastanku bolesti
Studije familijarne konkordancije (podvrsta studija familijarne agregacije)	Utvrđuje postojanja genetske determinante specifičnog fenotipa	Ispitivanje familija sa više obolelih članova da bi utvrdili da li oboleli članovi dele iste fenotipske karakteristike češće nego što bi se to nasumično javilo	Statistički značajna fenotipska konkordantnost među srođnicima sugerise da fenotip ima specifičnu genetsku determinantnu
Studije blizanaca	Razlikovanje genetskih i sredinskih faktora u nastanku bolesti	Poređenje stepena fenotipske konkordancije između MZ i DZ blizanaca	Veća fenotipska konkordantnost između MZ nego DZ blizanaca sugerise učešće genetskih faktora u nastanku fenotipa
Analize vezanosti /poziciono kloniranje	Lokalizuje genetske faktore rizika njihovom kolokalizacijom sa poznatim genetskim markerom	Fenotipsko/genotipska analiza članova iste familije sa više obolelih članova radi utvrđivanja da li se isti genski lokus javlja kod svih obolelih u toj familiji	Povezanost genetskog markera sa pojavom bolesti sugerise da je gen koji je faktor rizika u blizini tog genetskog markera
Genetske studije asocijacije	Identifikuje genetske faktore rizika identifikujući česte varijante kod obolelih i kontrola	Poređi učestalost čestih varijanti kod obolelih i kontrola iz opšte populacije	Veća učestalost neke česte varijante kod obolelih sugerise kauzalni značaj u nastanku bolesti
Studije sa NGS	Detektuje retke varijante sa velikim kauzalnim efektom. Mogu obuhvatati genom, egzom ili selektovane gene	Učestalost retkih varijanti u populaciji obolelih se poredi sa učestalošću u populacionim genomskim bazama ili kontrolama	Češća pojava varijante u populaciji obolelih u odnosu na opštu populaciju ili kontrole sugerise njen značaj u nastanku bolesti

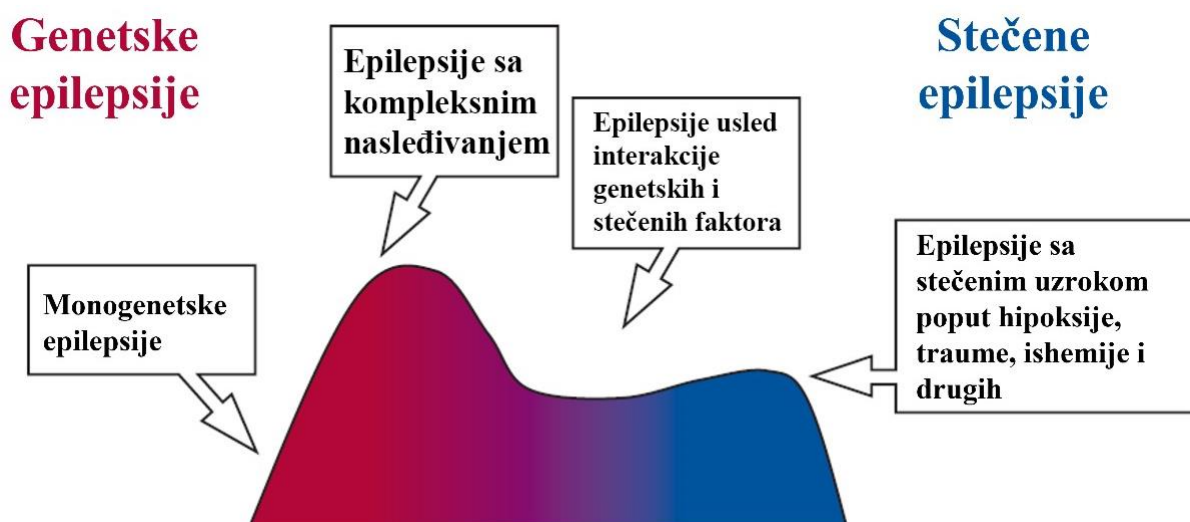
NGS – sekvenciranjem nove generacije (eng. *next generation sequencing*); MZ – monozigotni, DZ – dizigotni

U cilju identifikacije gena i genskih varijanti uključenih u nastanak bolesti, genetska epidemiologija se oslanja na studije različitog dizajna koje daju međusobno komplementarne podatke i koji samo zajedničkim sagledavanjem mogu kompletirati celovitu sliku genetske arhitektonike epilepsije (Tabela 9).

### 1.6.2 Naslednost fokalne epilepsije

Epidemiološke studije pokazuju da oko 5% obolelih od epilepsije ima obolele prvostepene srođnike (Beaussart and Loiseau, 1969; Bianchi et al., 2003; Sun et al., 2006; Vestergaard et al., 2007). Najveća proporcija obolelih prvostepenih srođnika je pokazana kod obolelih od GGE (15%) i obolelih od nestečene fokalne epilepsije (12%) (Ottman et al., 1996a). Međutim, većina obolelih sa pozitivnom porodičnom anamnezom ima samo jednog obolelog srođnika, a familije sa monogenskim obrascem nasleđivanja su retke. To znači da su *česte epilepsije* verovatno oboljenja sa *kompleksnim nasleđivanjem*, što znači da je nasleđe uslovljeno brojnim genetskim i sredinskim faktorima (Slika 25).

Termin *česte epilepsije* se odnosi na najčešće epileptičke sindrome i obuhvata i GGE sindrome, uključujući JME, juvenilnu apsansnu epilepsiju (JAE), CAE i idiopatske generalizovane epilepsije sa izolovanim generalizovanim toničko-kloničkim napadima (IGTK), kao i *fokalne epilepsije*, uključujući klasične lobarne sindrome kao i samoograničene fokalne epilepsije detinjstva poput SeLECTS (Koeleman, 2018). Posebno važan entitet u razmatranju genetskih determinanti FE je tzv. *nestečena fokalna epilepsija* (NSFE). Ovaj termin se odnosi na FE koja nije povezana sa postnatalnim insultom, poput tumora, moždanog udara, povrede glave, neuroinfekcije ili sličnog. U literaturi se često NSFE poistovećuje sa odsustvom epileptogene lezije na MR mozga, međutim danas je poznato da su neke lezije, kao što su FCD i HS, čest nalaz kod obolelih od genetski determinisane FE (Colosimo et al., 2007; Dawson et al., 2020; Iffland et al., 2019; Ishida et al., 2013; Scheffer et al., 2007; Striano et al., 2015). Ipak, brojne ranije studije koje su izučavale ovu grupu obolelih su uzorke NSFE ograničavali na NLFE.



Slika 25 Etiološki spektar epilepsija. Vertikalna osa označava procenjenju učestalost određenog kauzalnog faktora. Crvena boja označava genske determinantne dok su plavom označene stečene nokse, poput traume ili ishemije. Monogenetske epilepsije se nalaze na levom delu horizontalne ose adaptirano iz Berkovic et al., 2006

#### 1.6.2.1 Udeo genetskih determinanti u oboljevanju od epilepsije

Studije blizanaca su moćan alat za ocenu genetskog udela u nastanku neke osobine i kao takve su dale značajne informacije o naslednosti epilepsije. U njima se poredi konkordantnost u pojavi epilepsije između monozigotnih (MZ) i dizigotnih (DZ) blizanaca u populacionim registrima. Ako pretpostavimo da MZ i DZ blizanci u jednakoj meri dele sredinske faktore koji utiču na pojavu bolesti, kao i da MZ dele 100%, a DZ prosečno 50% genetskog materijala, razlika u konkordantnosti između MZ i DZ blizanaca je determinisana samo genetskim faktorima. Rezultati novijih blizanačkih studija u epilepsiji su dati u Tabela 10. Ovi rezultati sugerišu da genetski uzroci u velikoj meri učestvuju u etiopatogenezi GE, ali i FE.

Među FE, najznačajniji faktor koji određuje stepen genetske determinisanosti oboljenja je epileptički sindrom. Tako statistička razlika u konkordantnosti idiopatskih samoograničenih FE detinjstva, poput SeLECTS ili samoograničene epilepsije sa autonomnim napadima (eng. *self-limited epilepsy with autonomic seizures*, SeLEAS, ranije nazivana Panayiotopoulos-ov sindrom) između MZ i DZ blizanaca nije pokazana (Vadlamudi et al., 2014). Isto važi i za grupu stečenih FE, odnosno onih koje su nastale kao posledica poznatog moždanog insulta, poput moždanog udara ili traume. Nasuprot njima, u istoj studiji je pokazana velika razlika u konkordantnosti između MZ i DZ blizanaca obolelih od nelezionne epilepsije temporalnog režnja (0,82 vs. 0,00,  $p = 0,003$ ). Slične rezultate su pokazale i druge studije (Corey et al., 2011; Kjeldsen et al., 2003).

Tabela 10 Konkordantnost u pojavi epilepsije kod monozigotnih i dizigotnih blizanaca

		Kjeldsen et al., 2003	Corey et al., 2011	Vadlamudi et al., 2014
N parova		404	1714	418
Fokalna epilepsija	Konkordantnost MZ blizanaca	0,30	0,21	0,40
	Konkordantnost DZ blizanaca	0,10	0,04	0,03
Generalizovana epilepsija	Konkordantnost MZ blizanaca	0,65	0,64	0,79
	Konkordantnost DZ blizanaca	0,12	0,09	0,29

MZ – monozigotni, DZ - dizigotni

Blizanačke studije dozvoljavaju određivanje *heritabilnosti*, odnosno mere genetske determinisanosti neke karakteristike. Ona označava proporciju fenotipske varijabilnosti koja se može objasniti nasleđem. Raspon vrednosti heritabilnosti u blizanačkim studijama je vrlo širok, od 8-27% u finskoj (Sillanpää et al., 1991) do 69-88% u studijama iz Danske (Kjeldsen et al., 2003) i SAD (Miller et al., 1998), verovatno usled metodološke neusaglašenosti. Interesantno je istaći da su Miller i sar. našli najveću heritabilnost od 85% za fokalne napade sa pomućenjem svesti, dok je za apsansne napade i generalizovane toničko-kloničke napade ona bila 69% i 67%, redom, sugerišući veću heritabilnost u fokalnim epilepsijama nego što je ranije pretpostavljana.

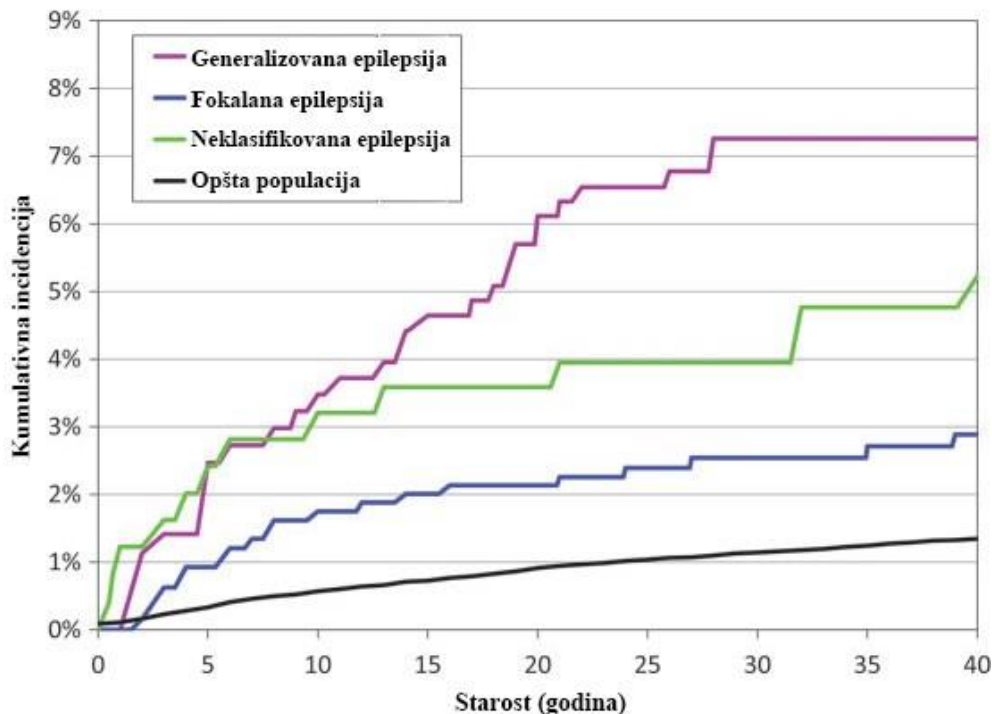
Neke od novijih metode određivanja heritabilnosti se oslanjaju na informatičku analizu genotipova dobijenih pomoću tzv. *microarray* DNK analiza. Heritabilnost zasnovana na pojedinačnim nukleotidnim polimorfizmima (eng. *single nucleotide polymorphism*, SNP), odnosno *SNP-heritabilnost* predstavlja proporciju fenotipske varijabilnosti koja se može objasniti čestim genetskim varijantama. Ovako određena heritabilnost u studiji sa 1258 obolelih od epilepsije i 5129 kontrola je iznosila 26% za sve epilepsije, 27% za FE i 44% za GE (Speed et al., 2014). Iako ovo sugerise da se najveći deo genetske varijabilnosti epilepsija može objasniti čestim varijantama male veličine efekta, to nije ispravan zaključak jer SNP-heritabilnost neizostavno obuhvata i uticaj retkih varijanti sa velikim kauzalnim efektom čiji pojedinačni uticaj je u ovom trenutku i dalje nemoguće oceniti.

Posebno interesantan nalaz Speed i sar. dobijen bivarijatom analizom je da je genetska arhitektonika FE različita od one kod GE i NE, tačnije da između ovako posmatranih grupa postoje zajedničke, kao i zasebne genetske determinante. Slično je nađeno i u blizanačkim studijama. MZ blizanci su visoko konkordantni za tip epilepsije (i do 80%), ali su opisani i diskordantni slučajevi (Berkovic et al., 1998; Kjeldsen et al., 2003; Vadlamudi et al., 2014). U studijama familijarne agregacije članovi porodica su češće bili konkordantni za tip epilepsije i to obično oko dva puta (Ottman et al., 1998; Peljto et al., 2014; Winawer et al., 2003). Jedna novija studija koja je analizirala 1021 obolelih iz 281 multiplih familija, odnosno familija sa više obolelih članova, je našla da od skoro prepoznata KGFE predstavlja genetski različit entitet od GE i FE (Ellis et al., 2020b). Posebno je interesantno da je u mešovitim porodicama, u kojima postoje oboleli i od GE i od FE, nađeno da su oboleli sa konkordantnim fenotipom genetski srodniji od obolelih sa diskordantnim fenotipom, što podržava hipotezu da GE i FE (a verovatno i KGFE) imaju zasebne genetske determinante, iako sva tri fenotipa verovatno dele i neke zajedničke.

#### 1.6.2.2 Rizik od oboljevanja kod srodnika

Studije familijarne agregacije porede prevalenciju epilepsije kod srodnika obolelih probanada sa onom u opštoj populaciji i na taj način daju robusnije informacije o riziku od oboljevanja među srodnicima obolelih od epilepsije. Starije studije su pokazale da je rizik od oboljevanja od epilepsije

oko 2.5 puta veći kod prvostepenih srodnika u odnosu na opštu populaciju (Annegers et al., 1982, 1976; Hemminki et al., 2006). Ottman i sar. našli da je kumulativna incidencija oboljevanja od epilepsije do 40. godine 1,6% kod roditelja, 3,0% kod braće i sestara i 7,1% kod dece obolelih od fokalne epilepsije nepoznate etiologije (Ottman et al., 1996b). Ipak, starije studije su bile ograničene na mali broj ispitanika, uglavnom iz tercijernih centara i bile su opterećene značajno smanjenim prijavljivanjem epilepsije kod starijih srodnika.



Slika 26 Uzrasno zavisna kumulativna incidencija epilepsije do 40. godine kod prvostepenih srodnika probanda sa epilepsijom prema tipu epilepsije, adaptirano iz Peljto et al., 2014

Jedina novija populaciona studija familijarne agregacije epilepsije se oslanjala na probande identifikovane u ročesterskom registru (Peljto et al., 2014). U njemu su autori našli da je kumulativna incidencija epilepsije do 40. godine kod prvostepenih srodnika 4,7% i da se je ona relativno ujednačena između roditelja (4,5%), braće i sestara (4,8%) i dece (3,9%), nasuprot velikim razlikama između ovih grupa iz starijih studija (Ottman et al., 1996a, 1996b). Šta više, u studiji porodične epilepsije Univerziteta Kolumbija (eng. *Epilepsy Family Study of Columbia University*, EFSCU) Ottman i sar. su našli povećanje relativnog rizika od oboljevanja kod prvostepenih srodnika od približno 50% za svakih 20 godina porasta godine rođenja (Ottman et al., 1996a). Verovatno je razlika u prevalenciji epilepsije među različitim kategorijama prvostepenih srodnika u starijim studijama posledica njenog neprijavlivanja kod starijih srodnika.

Poredeći kumulativnu incidenciju epilepsije do 40. godine starosti među srodnicima obolelih i opšte populacije u registru iz Ročestera, Peljto i sar. su našli odnos standardizovane incidencije (OSI) od 3,3 (95% CI 2,75-5,99) za sve prvostepene srodnike obolelih. Kada su pacijenti grupisani prema tipu epilepsije, OSI je bio najveći za srodnike obolelih od GE (5,0, 95% CI 3,18-7,45) (Slika 26). Za srodnike obolelih od FE je bio 2,1 (95% CI 1,27-3,10) kada su oboleli posmatrani kao jedinstvena grupa, međutim, OSI je značajno varirao u zavisnosti od etiologije epilepsije probanda (Tabela 11), tako da je kod srodnika obolelih od epilepsije postnatalne strukturne ili metaboličke etiologije kumulativna incidencija bila ista kao u opštoj populaciji. Najveća OSI nađena je za srodnike obolelih od epilepsije perinatalne ili razvojne strukturne ili metaboličke etiologije koji bi danas bili označeni kao oboleli od D/EE.

Slične rezultate prijavljuju i drugo autori. U EFSCU studiji, Ottman i sar. su našli da samo srodnici probanada sa epilepsijom nepoznate etiologije ili one povezane sa perinatalnom noksom imaju uvećan rizik od oboljevanja u odnosu na opštu populaciju (Ottman et al., 1996b). Rizik od oboljevanja među srodnicima obolelih od epilepsije usled postnatalnog insulta se nije razlikovao u odnosu na opštu populaciju i bio je relativno ujednačen između srodnika obolelih od epilepsije usled moždanog udara, moždane traume, neuroinfekcije, tumora mozga, kao i ostalih uzroka (Ottman et al., 1996a).

Tabela 11 Kumulativna incidencija epilepsije do 40. godine starosti i odnos standardizovane incidencije kod kod prvostepnih srodnika obolelih od fokalne epilepsije prema etiologiji, adaptirano iz Peljto et al., 2014

Etiologija fokalne epilepsije		Kumulativna incidencija do 40. godine (%) (SE)	OSI (95% CI)
Idiopatska		2,0 (2,01)	2,7 (0,00-6,81)
Nepoznate etiologije		2,9 (0,94)	2,2 (1,07-3,48)
Strukturna/metabolička	Perinatalna/razvojna	8,5 (3,50)	4,8 (1,56-9,88)
	Postnatalna	1,6 (0,76)	1,3 (0,26-2,53)
Ukupno		2,9 (0,65)	2,1 (1,27-3,10)

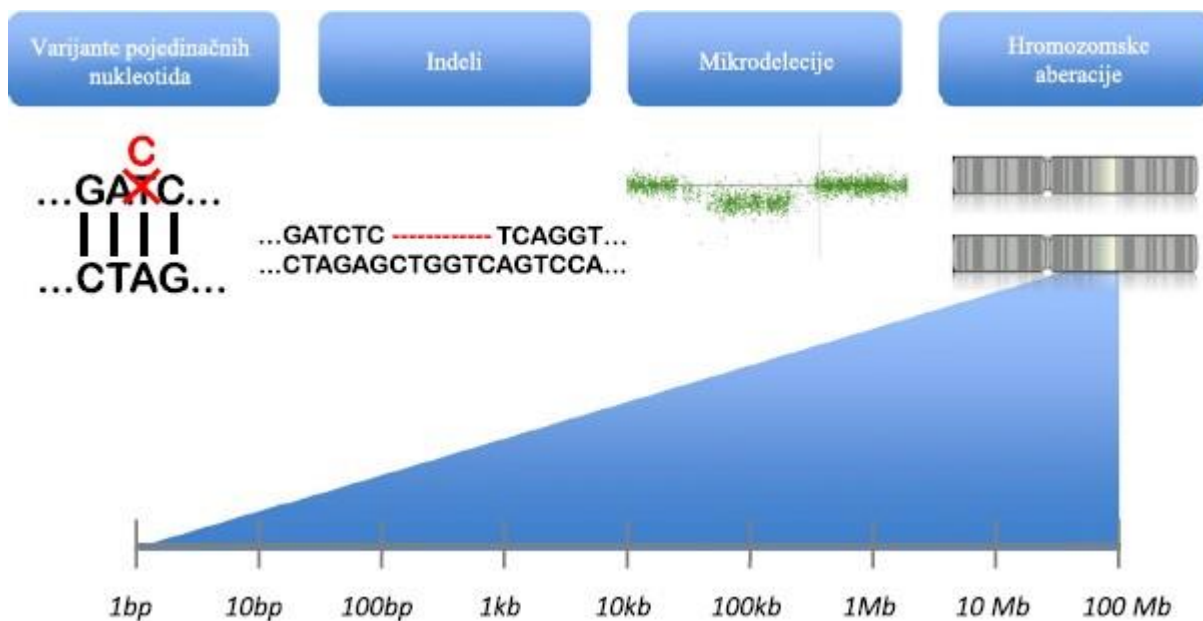
SE – standardna greška, OSI – odnos standardizovane incidencije, CI interval poverenja (eng. *confidence interval*)

Verovatnoća oboljevanja od epilepsije je veća kod dece obolelih majki u odnosu na obolele očeve, što je označeno kao *maternalni efekat*. Do sada najveća populaciona studija posvećena izučavanju maternalnog efekta se oslanja na podatke iz danskog registra i uključuje 1754742 probanda sa epilepsijom (Dreier et al., 2021). Ona je pokazala da je rizik od oboljevanja od epilepsije do 30. godine života 1,4 puta veći kod dece obolelih majki u odnosu na decu obolelih očeva. Brojne hipoteze kojim bi se objasnio maternalni efekat, potput intrauterine izloženosti AEL ili epileptičkim napadima majke ili X vezanog nasleđivanja nisu potvrđene u studijama (Ottman and Risch, 2012). U velikoj studiji tzv. *multiplih familija* sa barem tri člana obolela od epilepsije (ukupno 1120 obolelih iz 303 familije), autori su pokazali da je broj obolelih žena koje su bile majke čak 1,8 puta veći od broja obolelih muškaraca koji su bili očevi (Ellis et al., 2020a). Autori su efekat objasnili većom zastupljenošću žena u studiji (1,3 puta) i većom verovatnoćom ostavljanja potomstva kod obolelih žena u odnosu na obolele muškarce (1,4 puta). Ovi podaci podržavaju hipotezu tzv. *selektivnog fertiliteta*, odnosno, da muškarci oboleli od genetski determinisane epilepsije imaju manju verovatnoću ostavljanja potomstva u odnosu na žene sa genetskim formama epilepsije.

### 1.6.3 Spektar genetskih varijanti u fokalnoj epilepsiji

#### 1.6.3.1 Podela na osnovu veličine genetskih varijanti

Veličina genetskih varijanti varira od modifikacija pojedinačnih baznih parova do čitavih hromozoma (Slika 27). Pod strukturnim varijantama se podrazumevaju izmene broja i strukture hromozoma, kao i manje strukturne varijante označene kao varijante broja ponovaka (eng. *copy number variants*, CNV). Manje varijante se odnose na male insercije, delecije i supstitucije od jednog do nekoliko nukleotida, označenih kao *indeli*, i varijante pojedinačnih nukleotida (eng. *single nucleotide variant*, SNV). Iako postoji izvesna korelacija veličine varijante sa veličinom njenog efekta, oni nisu obavezno proporcionalni.



Slika 27 Raspon veličina genskih varijanti vezanih za epilepsiju, adaptirano iz Helbig et al., 2016.

### 1.6.3.1.1 Velike hromozomske aberacije

Velike hromozomske anomalije su povezane sa epilepsijom koja je deo složenog fenotipa. On tipično obuhvata IO, neurorazvojne poremećaje, kao i facijalne i telesne dizmorfizme. Hromozomske anomalije mogu biti varijacije broja hromozoma, odnosno *aneuploidije* ili strukturne anomalije. Aneuploidije većine hromozoma su inkompatibilne sa životom, dok su krupne strukturne anomalije, kao što su delecije, duplikacije ili translokacije delova hromozoma, relativno česti izazivači genetskih epilepsija. Neki hromozomski sindromi su povezani sa specifičnim elektrokliničim epileptičkim sindromom, dok drugi daju nespecifične epileptičke sindrome (Tabela 12)

Dijagnozu hromozomskih anomalija je moguće postaviti citogenetskim tehnikama. Aneuploidije i ring-hromozome je moguće detektovati prostim kariotipom. Kod mozaicizma ring hromozoma neophodno je određivanje kariotipa u 50-100 mitozu. Delecioni sindromi, poput 1p36 monozomije, zahtevaju preciznije metode poput fluorescentne in situ hibridizacije (FISH) (Hu et al., 2014).

Tabela 12 Najčešće hromozomske anomalije udružene sa epilepsijom, adaptirano iz Sen and Johnson, 2019 i Sorge and Sorge, 2010

Hromozomska anomalija	Sindrom	Tip epilepsije	Fenotip
1p36 monozomija		NES (ES, FN, GMN)	Dizmorfizmi, epilepsija kod 50-58%
4p-	Wolf-Hirschorn-ov sindrom	HKN, ES, AA, FN	Ženska predilekcija, dizmorfizmi, NRP, epilepsija kod >90%
Trizomija 12p		MN, MA	Dizmorfizmi, PMG, FCD
Tetrazomija 12p	Pallister-Killian-ov sindrom	NES (ES)	Dizmorfizmi, IO, NRP
R14	Ring hromozom 14	NES	Mozaicizam, dizmorfizmi, katarakta, pulmonalna stenoza, ataksija
17p13.3-	Miller-Dirke	NES, FN, MN, ES	Dizmorfizmi, lizencefalija tip 1, epilepsija kod >90%

18q-		Disautonomni FN sa srčanom aritmijom i apnejom	Dizmorfizmi, srčane malformacije, NRP
R20	Ring hromozom 20	Noćni napadi iz frontalnog režnja sa vizuelnim halucinacijama, konfuzijom, automatizmima, mioklonijom kapaka, NKSE	Mozaicizam, dizmorfizmi (ne kod svih pacijenata)
Trizomija 21	Down-ov sindrom	NES (ES, FN, GMN, MN)	Dizmorfizmi, srčane malformacije, Alzheimer-like demencija ranog početka, epilepsija kod 8-10%
XXY	Klinefelter-ov sindrom	NES (AN, GMN)	Muškarci, epilepsija kod 5-17%, IO, hipogonadizam

NES – nespecifični epileptički sindrom, ES – epileptički spazam, FN – fokalni napad, GMN – generalizovani motorni napad, HKN – hemikonvulzivni napad, AA – atipični apsans, MN – mioklonički napad, MA- mioklonički apsans, PMG – polimikrogirija, FKC – fokalna kortikalna displazija, NRP – neurorazvojni poremećaji, FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. focal cortical dysplasia), IO – intelektualna onesposobljenost, NKSE – nekonvulzivni status epilepticus

#### 1.6.3.1.2 Varijante broja ponovaka (CNV)

Naučna zajednica je poslednjih decenija prepoznala da je veliki udeo genetske varijabilnosti ljudskog genoma posledica varijanti srednje veličine. Među ovom kategorijom kao najčešće se ističu varijante broja ponovaka koje nastaju nebalansiranim hromozomskim rearanžmanom. Naime, procenjuje se da je i do 2/3 ljudskog genoma sačinjeno od ponovljenih segmenata DNK (de Koning et al., 2011), a njihova varijacija je odgovorna za 4,8-9,5% ukupne genomske varijabilnosti (Zarrei et al., 2015). CNV mogu dovesti do izmena u genskoj ekspresiji gena u zahvaćenim regiona (Wang et al., 2015) ali i do promena u konfiguraciji hromatina koje posledično dovode do izmena genske ekspresije na nivou čitavog genoma (Gheldof et al., 2013). Ne postoji strog konsenzus o veličini ovih ponovaka i kao donju granicu eksperti navode od 50 do čak 1000 baznih parova (I. Helbig et al., 2016; Thomas and Berkovic, 2014; Zarrei et al., 2015), ali uprkos ovoj neusaglašenosti, najveći broj CNV broji više hiljada, a nekad i više miliona baznih parova.

Postoje dve vrste CNV: rekurentne i nereakurentne. Rekurentne CNV su posledica nealelskih homologih mejotičkih rekombinacija koja nastaju na posebnim predilekcionim mestima. Ove *vruće tačke* se sastoje iz DNK sekvenci veličine 50 kb do 10 Mb oivičenih dupliranim blokovima sekvenci veličine preko 1 kb sa preko 98% sekvencijalnog preklapanja (Stankiewicz and Lupski, 2002). Zbog načina nastanka, rekurentni CNV kod različitih osoba su gotovo identične. Nerekurentne CNV se javljaju u čitavom genomu i nastaju usled grešaka u replikaciji. Nastaju na prekidima na mestima kratkih sekvencija identičnih baznih parova (Lee et al., 2007). Nerekurentne CNV mogu biti jednostavne u kojima dolazi do delecije segmenta između dva prekida ili mogu biti praćeni insercijama ili duplikacijama. Zbog ovakvog mehanizma nastanka, CNV između različitih osoba su različiti, ali osobe sa sličnim fenotipom često imaju male preklapajuće regione u kojima se nalaze geni koji definišu fenotip.

##### 1.6.3.1.2.1 Rekurentne varijante broja ponovaka

Rekurentne delecije su već ranije opisane kao uzročnici IO u različitim sindromima, među kojima neki, poput Angelman-ovog sindroma, svojim fenotipom obuhvataju i epilepsiju. Njihova detekcija se oslanjala na stariju tehnologiju poput već spominjane FISH. Međutim, tek sa razvojem modernijih tehnika, poput hromozomske mikroarej analize (eng. *chromosomal microarray analysis*, CMA) dolazi ekspanzija otkrića mikrodelecionih sindroma. Mikrodelecija 15q13.3 je prvi put indentifikovana u populaciji obolelih od GGE (Helbig et al., 2009). U velikoj studiji sa 1234 obolelih od GGE i 3022 kontrola, de Kovel i sar. su, pored pomenute 15q13.3, opisali još jednu mikrodeleciju na 15 hromozomu (15q11.2) i jednu na hromozomu 16 (16p13.11), sa ukupnom učestalošću od oko 3% obolelih od GGE (de Kovel et al., 2010). Heinzen i sar. su u studiji obolelih od FE pokazali

statistički značajno opterećenje delecijama 16p13.11 kod obolelih u odnosu na kontrole. Interesantno je da su delecije 15q11.2 takođe bile češće kod obolelih, ali zbog strogih statističkih kriterijuma ova razlika nije dostigla nivo statističke značajnosti (Heinzen et al., 2010). Važno je napomenuto da mikrodelecije nisu indentifikovane u populaciji epileptičkih encefalopatija, što sugeriše drugačiji mehanizam nastanka ovih oboljenja (Mefford et al., 2011).

#### 1.6.3.1.2.2 Nerekurentne varijante broja ponovaka

Kvantitativnom lančanom reakcijom polimerizacije (kPCR) i multiplom amplifikacijom probe zavisnom od ligacije (eng. *multiplex ligation-dependent probe amplification*, MLPA) su ranije utvrđene delecije i duplikacije pojedinačnih ili multiplih egzona u poznatim genima za epilepsiju, poput *SCN1A* (Marini et al., 2009). U ranije spominjanoj studiji FE Heinzen i sar. je pored već pominjanih rekurentnih delecija, nađeno i 24 delecije većih od 1 Mb od kojih se većina javljala kod samo jednog obolelog (Heinzen et al., 2010).

S obzirom na to da su nerekurnente CNV jedinstvene, interpretacija njihovog kauzalnog značaja zahteva razmatranje više kriterijuma, poput veličine, zahvaćenih gena, naslednosti i odsustva u zdravoj populaciji. Pronalaženje više pacijenata sa delimično preklapajućim nerekurnentnim CNV omogućava identifikaciju kritičnog regiona vezanog za neko oboljenje. Tom metodom su otkriveni *PCDH19* u epilepsiji sa IO kod devojčica (Christel Depienne et al., 2009) i *GRIN2A* kod obolelih od poremećaja iz epilepsija-afazija spektra (Reutlinger et al., 2010).

#### 1.6.3.1.3 Indeli i varijante pojedinačnih nukletida (SNV)

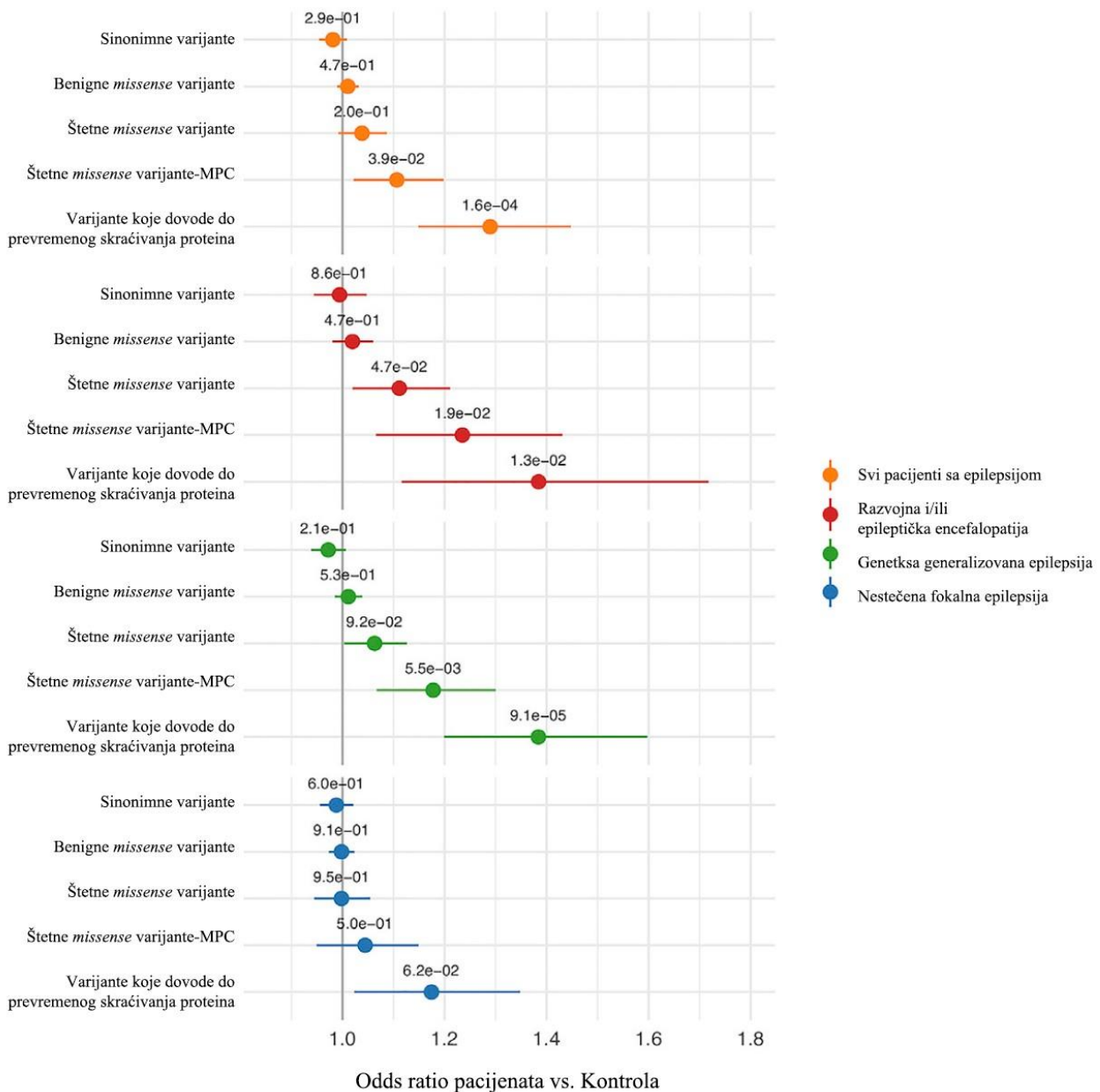
Male genske varijante poput indela i SNV nisu dostupne prethodno spominjanim metodama detekcije i zahtevaju sekvenciranje. Kako se radi o najčešćim varijantama u ljudskom genomu, razvoj novih pristupačnijih metoda sekvenciranja je omogućio otkriće velikog broja varijanti u mnogim bolestima.

Indeli su kratke insercije, duplikacije ili delecije, tipično ograničene na manje od 50 baznih parova, mada kao u prethodnom slučaju strog stručni konsenzus ne postoji. U zavisnosti od primenjene definicije, broj indela u genomu svake osobe varira između sto hiljada i miliona (Wang et al., 2008). Oko 70% svih indela čine kratke sekvence od jednog do tri nukleotida. Delecije su oko dva puta češće od duplikacija ili insercija (Lin et al., 2017). U kodirajućim segmentima ima manje od 1000 indela i najčešće su sačinjeni od 3 ili 6 nukleotida, čime dovode do gubitka ili dobitka jedne ili dve aminokiseline, bez izmene okvira čitanja (Mullaney et al., 2010). Oko 40 indela u svakom genomu je sačinjeno od jednog ili dva nukleotida što dovodi do izmene čitanja sekvence, odnosno. *frameshift varijanti* (Lin et al., 2017).

SNV su supstitucije pojedinačnih nukleotida i mogu biti sinonimne, kada ne dovode do supstitucije aminokiseline u proteinskom produktu, ili nesinonimne kada dovode do aminokiselinske supstitucije (*missense* varijante) ili nastanka stop kodona (*nonsense* varijante). *Missense* varijante se funkcionalno mogu ponašati kao GOF, LOF ili biti neutralne (Ellis et al., 2020c). Nasuprot njima, *nonsense* varijante spadaju u *null* varijante kod kojih postoji skraćenje polipeptida ali i njegovog potpunog odsustva posredstvom NMD RNK (Boillot and Baulac, 2016). Druge *null* varijante su već spominjane *frameshift* varijante, varijante sa gubitkom starta i varijante kanoničnog akceptorskog ili donorskog mesta splajsovanja koje remete postranslacionu obradu RNK (Ellis et al., 2020c).

Članovi Epi25 kolaboracije su pokušali da diferenciraju opterećenje različitim tipovima SNV i indela u velikoj grupi pacijenta (9170 osoba sa epilepsijom i 4042 kontrole) (Epi25 Collaborative, 2019).





Slika 28 Opterećenje u intolerantnim genima sinonimnim, benignim missense, štetnim missense, štetnim missense sa MPC  $\geq 2$  i PTV kod svih obolelih, obolelih od D/EE, obolelih od GGE i obolelih od NSFEE u odnosu na zdrave kontrole, adaptirano iz Epi25 Collaborative, 2019

Posebno su analizirane sinonimne, benigne i patogene *missense* varijante i PTV u genima intolerantnim na LOF. U svim grupama je detektovano opterećenje PTV kao i štetnim *missense* varijantama sa MPC skorom većim od 2, ali ono u grupi NSFEE nije dostiglo nivo statističke značajnosti. U svim grupama ispitanika sa epilepsijom je zabeleženo progresivno povećanje opterećenja od sinonimnih varijanti prema PTV, što sugeriše pozitivnu korelaciju između težine funkcionalnog oštećenja proteinskog produkta u genima intolerantnim na gubitak funkcije i verovatnoće od oboljevanja od epilepsije. Dalja istraživanja su neophodna za bolje razumevanje funkcionalnih posledica različitih tipova malih varijanti i njihove posledične fenotipske ekspresije.

### 1.6.3.2 Veličina efekta

Genetske determinante mogu u različitoj meri doprinosti nastanku oboljenja. Ova mera je označena kao *veličina efekta*. Najčešće korišćen parametar koji oslikava veličinu efekta je *odnos šanse* (eng. *odds ratio*, OR) i odgovara povećanju rizika od oboljevanja usled prisustva određene

varijante (Burton et al., 2005). Izračunava se iz odnosa prevalencije oboljenja kod nosilaca varijante i prevalencije u opštoj populaciji. *Genska mutacija* je termin koji se najčešće koristi u mendelskim oboljenjima, ali u suštini označava gensku varijantu koja ima veliku veličinu efekta. U tom slučaju se kao mera veličine efekta često koristi *penetrantnost* koja odgovara verovatnoći da nosilac varijante ima određeno oboljenje. Na drugom kraju spektra kauzalnosti su *genski polimorfizmi* koji označavaju česte varijante uključene u nastanak kliničke slike poligenetskih oboljenja ili one koje modifikuju kliničku sliku u monogenetskim oboljenjima (Guerrini et al., 2014).

Iako su OR i penetrantnost naizgled konkordantne, neke varijante poput 15q13.3 delecije imaju inkompletnu penetrantnost za GGE kao deo kliničkog fenotipa uprkos jako visokom OR (> 50) za istu fenotipsku karakteristiku (de Kovel et al., 2010). Očigledno je da postoje drugi genetski ili sredinski faktori koji određuju pojavu fenotipa kod nosilaca ovih varijanti.

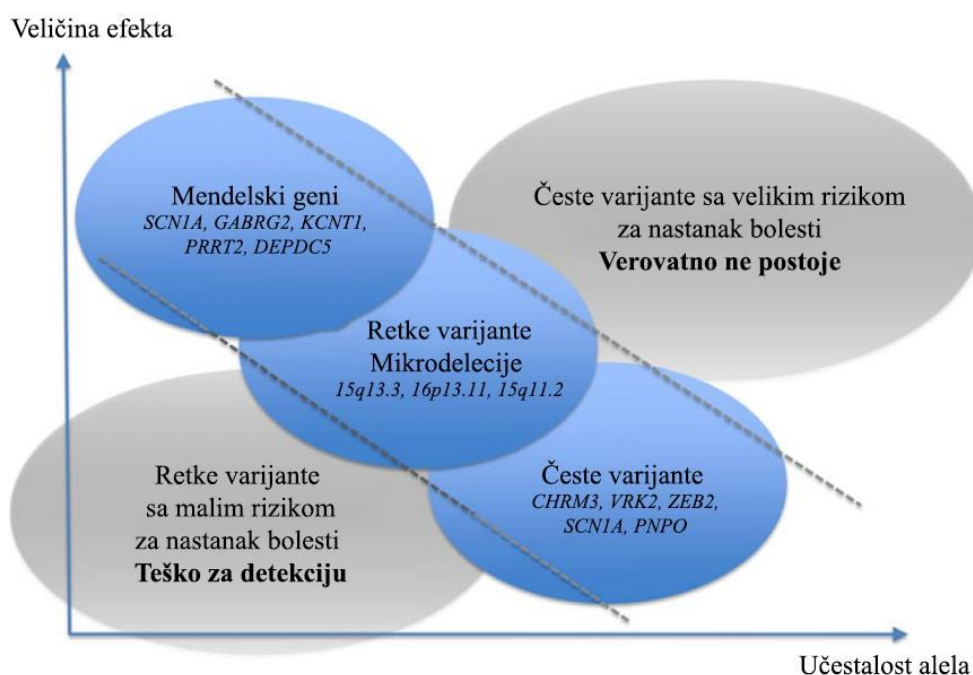
### 1.6.3.3 Učestalost genskih varijanti

Retki monogenetski sindromi su omogućili otkrivanje odgovarajućih gena sa velikom veličinom efekta. Ove retke varijante sa velikom veličinom efekta kosegregiraju kod obolelih članova velikih multiplih familija, što omogućava detekciju lokusa upotrebom analiza vezanosti (Tabela 9).

U skorije vreme je fokus istraživanja sa retkih monogenetskih sindroma preseljen na česte sporadične epilepsije kod kojih postoji minimalna ili nikakva familijarna agregacija. Hipotetički su razmatrana dva suprotstavljena objašnjenja genetske osnove ovih oboljenja. Prvo, označeno kao *hipoteza često oboljenje – česta varijanta* (Chakravarti, 1999) je da su *česte varijante*, odnosno one koje se javljaju kod 1% opšte populacije ili češće, odgovorne za mali pojedinačni rizik od nastanka oboljenja. Kako je njihova pojava u populaciji česta, one bi posledično bile odgovorne za relativno veliki broj slučajeva oboljevanja. Nasuprot tome, *hipoteza često oboljenje – retke varijante* (Pritchard, 2001) pretpostavlja da oboljenje nastaje usled međusobne interakcije više retkih varijanti u više različitih gena. U ovom slučaju se zapravo ne radi o čestom oboljenju, već o skupu pojedinačnih retkih genetski raznorodnih oboljenja. Ove hipoteze nisu međusobno isključive, ali njihovo dokazivanje zahteva različite metodološke pristupe zbog čega su uvek izolovano istraživane.

U mnogim oboljenjima se mogu naći rekurentne varijante, koje su istovetne za veliki broj obolelih. Ovo pogotovu važi za GOF varijante ili one sa dominantno negativnim efektom. U epilepsiji je to posebno česta pojava u *SCN2A* (Howell et al., 2015), *SCN8A* (Larsen et al., 2015) i *KCNQ2* genu (Millichap et al., 2016). Nasuprot tome, u drugim genima, poput *DEPDC5* je nađen veliki broj različitih varijanti, od kojih su neke identifikovane kod samo pojedinačnih pacijenata, što dodatno smanjuje njihovu učestalost u populaciji (Baulac, 2016).

Postoji inverzna korelacija između učestalosti genetskog faktora rizika i njegove veličine efekta. Varijante sa velikom veličinom efekta su izuzetno retke u opštoj populaciji zbog smanjenja tzv. *reproduktivne sposobnosti* njihovih nosilaca, odnosno smanjene verovatnoće ostavljanja potomstva usled postojanja teških i onesposobljavajućih bolesti (Bennett et al., 2017). Samim tim, što je oboljenje izazvano genskom varijantom teže, to je manja verovatnoća njene pojave kod zdravih osoba. Kako su zbog toga varijante velike veličine efekta retke, a česte varijante tipično male veličine efekta, njihov međusoban odnos stvara koridor varijanti i gena koji verovatno učestvuju u patogenezi epilepsije (Slika 29). Iznad ovog koridora bi se nalazile česte varijante sa velikom veličinom efekta čije postojanje je najverovatnije isključeno relativno malom prevalencijom epilepsije. Ispod koridora bi se našle retke varijante sa malom veličinom efekta za čiju detekciju bi bile neophodne studije sa jako velikim brojem ispitanika (Helbig and Lowenstein, 2013).



Slika 29 Koridor mogućih genetskih varijanti u epilepsiji, adaptirano iz Helbig et. al., 2016

#### 1.6.3.3.1 Često oboljenje – česta varijanta

Traganje za čestim varijantama uključenim u patogenezu bolesti je ograničeno velikom varijabilnošću ljudskog genoma. Do sada je identifikovano čak 88 miliona varijanti kod 26 genetski raznorodnih populacija, među kojima je 85 miliona SNV, 3,6 miliona indela i oko 60 hiljada CNV i drugih strukturnih varijanti. Dve ljudske osobe se razlikuju u približno 2 miliona SNV (Auton et al., 2015). Ova osnovna varijabilnost nameće izuzetno stroge kriterijume za dokazivanje kauzalnosti. Tako je prihvaćena maksimalna  $p$  vrednost za GWAS svega  $5 \times 10^{-8}$ . Strogi statistički kriterijumi nameću potrebu za velikim uzorcima da bi GWAS studije bile adekvatno osnažene, a mnoge su zbog toga dale negativne rezultate.

Prvi signifikantni podaci iz GWAS dobijeni su meta analizom 12 studija sa ukupno 8696 obolelih i 26157 kontrola (ILAE Consortium on Complex Epilepsies, 2014). Ovom meta analizom su otkrivena dva lokusa u grupi koja je obuhvatala sve pacijente sa epilepsijom (2q24.3 koji upućuje na *SCN1A* i 4p15.1 koji upućuje na *PCDH7*) i jedan lokus kod GGE (2p16.1 koji sugeriše *VRK2* ili *FANCL*). Nijedan gen u među obolelim od FE nije dostigao nivo statističke značajnosti. Mogući lokus od značaja u FE je lociran na 2q24.3 koji upućuje na *SCN1A*, ali s obzirom na  $p$  vrednost  $1,45 \times 10^{-7}$  on nije zadovoljio stroge GWAS kriterijume. U do sada najvećoj GWAS u epilepsiji sa 15212 obolelih i 29677 kontrola je identifikovano 16 statistički značajnih alela (11 prethodno utvrđenih i 5 novootkrivenih), (ILAE Consortium on Complex Epilepsies, 2018). Veličina uzorka je dozvolila analizu u okviru uže definisanih fenotipova, što je dovelo do identifikacije sindromski specifičnih lokusa u JME, CAE i FE sa HS. Kumulativni rizik za epilepsiju uzrokovan čestim varijantama u ovoj studiji je procenjen na 32,1% za GGE i 9,2% za FE, što sugeriše da u nastanku GGE, za razliku od FE, postoji veliki poligenetski doprinos. Rezultati ove studije su prikazani u Tabela 13.

Tabela 13 Statistički značajni lokusi kao faktori rizika za epilepsiju, adaptirano iz ILAE Consortium on Complex Epilepsies, 2018

Lokus	Fenotip	Mogući geni
2p16.1	Sve epilepsije, GGE, CAE	<i>FANCL, BCL11A</i>
2q24.3	Sve epilepsije, FE, GGE	<i>SCN3A, SCN2A, SCN1A, TTC21B</i>
16q12.1	Sve epilepsije	<i>HEATR3, BRD7</i>

2p24.1	GGE	Nepoznato
2q32.3	GGE	<i>STAT4</i>
4p15.1	GGE	<i>PCDH7</i>
4p12	GGE	<i>GABRA2</i>
5q22.3	GGE	<i>KCNN2</i>
6p22.3	GGE	<i>ATXN1</i>
6q22.33	GGE	Nepoznato
17q21.32	GGE	<i>PNPO</i>
21q22.11	GGE	<i>GRIK1</i>
16p11.2	JME	<i>STX1B</i>
2q22.3	CAE	<i>ZEB2</i>
3q26.31	FE sa HS	<i>C3orf33, SLC33A1, KCNAB1</i>
6q22.31	FE sa HS	<i>GJA1</i>

GE – generalizovana epilepsija, CAE – dečja apsansna epilepsija (eng. *childhood absans epilepsy*),  
FE – fokalna epilepsija, HS – hipokampalna skleroza

#### 1.6.3.3.2 Često oboljenje – retke varijante

Ovom hipotezom je pretpostavljeno da se genetska osnova čestih epilepsija sastoji od velikog broja retkih (zastupljenih kod manje od 1% opšte populacije) i ultra retkih (onih koje nisu prisutne u populacionim genomskim bazama) varijanti. Kako se radi o izuzetno retkim varijantama, njihov broj bi morao biti veći od više stotina ili čak hiljada da bi se ovim modelom mogla objasniti genetska osnova česte bolesti kakva je epilepsija.

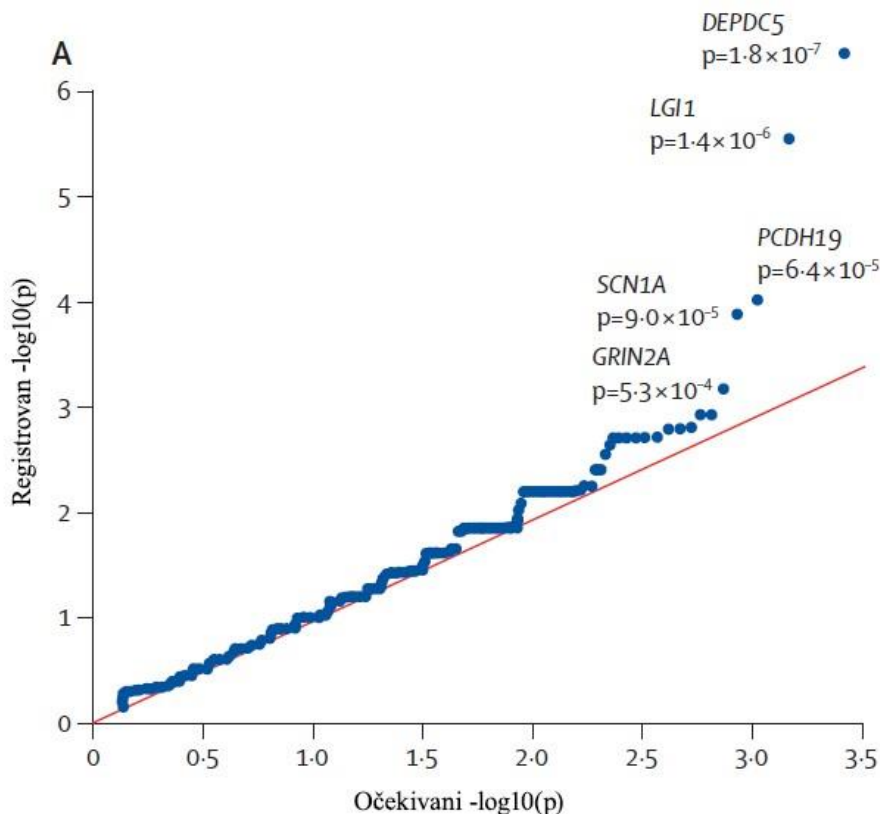
Prve otkrivene retke varijante povezane sa čestim epilepsijama su već spominjane mikroleucije najčešće vezane za GGE. Međutim, njihova ukupna učestalost je svega nekoliko procenata populacije sa GGE (i još manje kod NSFGE) i predstavljaju faktore rizika za nastanak bolesti sa odnosom šanse od svega 5 do 68 (de Kovel et al., 2010; Helbig et al., 2009), tako da je njihov sveukupni udeo u genetskoj varijabilnosti epilepsija zanemarljiv.

Veliki potencijal za objašnjenje genetske varijabilnosti epilepsije je ležao u istraživanju indela i varijanti pojedinačnih nukleotida (eng. *single nucleotide variants, SNV*). Do razvoja NGS klinička identifikacija sporadičnih slučajeva retkih monogenetskih sindroma je bila osnov detekcije retkih SNV u genima kandidatima. Direktno sekvenciranje klasičnim metodama upotrebom Sanger-ovog sekvencatora zahteva vreme i velike materijalne troškove, te je bilo moguće sekvencirati samo mali broj dobro selektovanih gena kandidata kod pacijenata sa visokim stepenom kliničke sumnje na genetsku epilepsiju. Rezultate nije bilo moguće statistički validirati zbog malog broja sekvenciranih gena iz opšte populacije, zbog čega se patogenost novootkrivenih varijanti argumentovala isključivo pomoću funkcionalnih studija. Ovo je za posledicu imalo veliku stopu lažno pozitivnih rezultata (Sen and Johnson, 2019).

Masivno paralelno sekvenciranje pomoću NGS je omogućilo prikupljanje sekvenci čitavih gena ili egzoma velikog uzorka opšte populacije, čime je otkriveno da svaka prividno zdrava osoba nosi prosečno 22000 varijanti u kodirajućim segmentima gena, od kojih je 9000 nesinonimno, odnosno dovode do supstitucije aminokiseline u finalnom proteinu. Od njih 100 čine retke varijante, a čak pet retke varijante koje dovode do skraćivanja proteina (*null* varijante) (Lek et al., 2016). Ovaj veliki obim fiziološke varijacije u genomu čoveka je nametnuo potrebu za razvojem kriterijuma za definisanje patogenog značaja varijanti koji su bazirani na evaluaciji više vidova dokaza kao što su funkcionalne studije varijanti, evolutivna konzerviranost gena, učestalost varijanti u populacionim bazama gena ili egzoma, prisustvo kod zdravih roditelja kod *de novo* varijanti kao i upotreba *in silico* metoda predikcije patogenosti (Nykamp et al., 2017; Richards et al., 2015).

### 1.6.3.3.2.1 Studija Epi4K konzorcijuma i Epilepsija genom/fenom projekta

Prva velika studija kod čestih epilepsija koja je koristila WES je analizirala učestalost patogenih varijanti u 18668 gena kod obolelih i kontrola (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Patogene varijante su definisane kao *null* varijante ili *missense* varijante koje su ocenjene kao verovatno patogene upotrebom in silico analize pomoću Poly-Phen-2 (Adzhubei et al., 2013). U studiju je uključeno 1827 obolelih od epilepsije (640 obolelih od GGE, 525 obolelih od NSFE sa srodnicima do trećeg stepena srodnosti obolelih od epilepsije i 662 obolelih od sporadične NSFE) i 3877 kontrola iz opšte populacije.



Slika 30 Grafički prikaz opterećenja genskim varijantama kod obolelih od familijarne NSFE. Prvih pet najopterećenijih gena su posebno označeni. Adaptirano iz Epi4K consortium and Epilepsy Phenome/Genome Project, 2017

Među najinteresantnijim rezultatima iz ove studije je bio nalaz da je jedini gen koji je dostigao nivo statistički značajne opterećenosti patogenim varijantama bio *DEPDC5* ( $p = 1,8 \times 10^{-7}$ ) u populaciji obolelih od NSFE sa pozitivnom porodičnom anamnezom (označenih kao familijarna NSFE). Šta više, prvih pet najopterećenijih gena u ovoj populaciji su svi bili među 43 poznata dominantna gena za epilepsiju (Slika 30). Autori su izračunali da je verovatnoća da je ovakva distribucija rezultata nastala slučajno iznosi  $5,7 \times 10^{-14}$  na osnovu čega su zaključili da su svi navedeni geni verovatno značajno opterećeni u ovoj populaciji, iako to nije pokazano primarnom analizom usled vrlo strogih statističkih kriterijuma. Takođe je izračunato da se približno 8% varijabilnosti kod familijarnih NSFE može prepisati varijantama u ovih 5 gena. Devet varijanti (tri u *DEPDC5*, tri u *PCDH19* i po jedna u *CHRN2*, *GRIN2A* i *LGI1*) su imale preklapajući kodon sa već objavljenim patogenim varijantama iz internet baza. Među obolelima od sporadične NSFE nijedan gen nije dostigao nivo statističke značajnosti. Od pet prethodno pominjanih gena samo *LGI1* je dostigao  $p$  vrednost manju od 0,05 ( $p = 0,025$ ).

Uprkos poznatom genetskom uplivu u patogenezi GGE, u ovoj populaciji nijedan gen nije bio statistički značajno opterećeni selektovanim varijantama u odnosu na zdrave kontrole. Četiri varijante

(dve u *SCN1A* i po jedna u *GABRG2* i *SCN1B*) su imale preklapajući kodon sa već objavljenim patogenim varijantama iz internet baza. Tri poznata dominantna epileptička gena (*KCNQ2*, *GABRG2* i *SCN1A*) su bila među 10 najopterećenijih gena kod obolelih od GGE, ali nijedan nije dostigao nivo statističke značajnosti.

Rezultati iz ove studije apostrofiraju metodološka ograničenja statističke snage studija koje analiziraju veliki broj gena. Naime, da bi se kontrolisala greška tip I u sve tri populacije ispitanika, definisana greška za celokupnu analizu 18668 gena je bila  $p = 8,9 \times 10^{-7}$ . Uzorak pacijenata i kontrola u ovoj studiji, iako do tada najveći za studiju sa WES, nije bio dovoljan da pokaže statističku značajnost za četiri od pet verovatno značajno opterećenih gena.

Posebno važan rezultat ove studije je bio u tome da su geni povezani sa epilepsijom bili statistički značajno obogaćeniji isključivo *ultra retkim varijantama* koje nisu prisutne u populacionim bazama genoma ili egzoma i čija učestalost je manja od 0,0005%. Varijante koje su prisutne u populacionim bazama su bile jednako zastupljene među obolelima i kontrolama. Druge studije su takođe pokazale da patogene varijante obično nastaju u segmentima kodirajućih sekvenci koje su evolutivno najkozerviranije i najmanje trpe varijacije i koje nisu prisutne u opštoj populaciji.

#### 1.6.3.3.2 Studije Epi25 kolaboracije

Nakon velikog iskoraka napravljenog rezultatima Epi4 konzorcijuma pokušana je ekspanzija rezultata analizom većeg broja ispitanika.

Prva analiza Epi25 kolaboracije je obuhvatila 9170 osoba sa epilepsijom i 8436 kontrola (Epi25 Collaborative, 2019). Autori su poredili učestalost *ultra retkih null* i *missense* varijanti za koje je *in silico* predikcija sugerisala verovatnu patogenost. Ispitanike su sačinjavali 1476 osoba obolelih od D/EE, 4453 obolelih od GGE i 5331 obolelih od NSFE. Velika razlika u selekciji pacijenata, osim uključivanja i pacijenta sa D/EE se sastojala u tome što uključivanje u studiju nije zahtevalo pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju. Posledično, svega 9% obolelih od D/EE, 12% obolelih od GGE i 5% obolelih od NSFE je imalo prvostepene srodnike obolele od epilepsije. Rezultati su pokazali značajno opterećenje *ultra retkim varijantama* u genu *SCN1A* kod obolelih od D/EE, ali nisu pokazali statistički značajno opterećenje ni u jednom genu kod GGE i NSFE. Među najviše rangiranim genima u NSFE su bili prethodno identifikovani geni za epilepsiju, *LGII* i *GABRG2* kao i novoidentifikovani *TRIM3*.

Posebno je interesantno što je nađeno značajno opterećenje patogenim *missense* varijantama u genima koji regulišu GABA-ergičku inhibiciju u sve tri grupe obolelih, što sugeriše moguće zajedničke epileptogenetske mehanizme.

Druga studija Epi25 kolaboracije je obuhvatila 13171 osoba obolelih od epilepsije (1782 osobe sa D/EE, 5048 osoba sa GGE i 6341 osoba sa NSFE) i 14100 kontrola (Epi25 Collaborative, 2021). U grupi D/EE identifikovano je značajno opterećenje u *SCN1A* i *NEXMIF* genima, a među 10 prvorangiranih gena, čak devet su bili geni već prethodno povezani sa nastankom epilepsije. Među obolelima od GGE i NSFE nijedan gen nije dostigao nivo statističke značajnosti. Prvorangirani gen po opterećenju *ultra retkim varijantama* u NSFE je bio *DEPDC5*, a među deset prvorangiranih su bila još četiri gena prethodno povezana sa nastankom epilepsije (*GRIN2A*, *SCN1A*, *SCN8A* i *NPRL2*). Interesantan rezultat ove analize je bio saznanje da je značajno veće opterećenje *ultra retkim varijantama* u segmentima gena koji ne tolerišu varijante nađeno kod pacijenata sa D/EE u odnosu na pacijente sa NSFE, što je moguće objašnjenje za varijabilnu težinu fenotipa koja je povezana sa varijantama u istim genima.

### 1.6.3.3 Retke i česte varijante

Zasebno razmatranje retkih i čestih varijanti u epilepsiji je posledica opisanih razlika u metodološkim pristupima neophodnim za njihovo otkrivanje. U realnosti, verovatno je čitav spektar varijanti različitih frekvencija i veličina efekta uključen u kompleksan proces razvoja epileptičnog fenotipa, pri čemu najveći izazov leži u kliničkoj interpretaciji rezultata genetskih testiranja.

### 1.6.3.4 Obrasci nasleđivanja i nenasledni genetski mehanizmi

U širokom fenotipskom spektru epilepsija identifikovana su oboljenja sa svim poznatim obrascima nasleđivanja. Fenotipski čiste monogenske epilepsije, kao što je ranije spominjano, su autozomno dominantna oboljenja sa često blažom kliničkom slikom u odnosu na druge monogenske epileptičke sindrome. Nasuprot njima, recesivne epilepsije su tipično teški progresivni poremećaji praćeni drugim neurokognitivnim oštećenjima izvan epilepsije. Tipičan primer su progresivne miokloničke epilepsije poput Unverricht-Lundborg-ove ili Lafora-ine bolesti. Sličnu fenotipsku ekspresiju sa miokloničkom epilepsijom kao centralnim fenotipskim elementom imaju i druge autozomno recesivne metaboličke bolesti, ali i mitohondrijske bolesti koje se mogu nasleđivati matroklino. X vezane epilepsije se mogu nasleđivati dominantno, kada se češće javljaju kod devojčica, poput *CDLK5* encefalopatije ili recesivno kada su češće kod dečaka, poput *ARX* varijanti.

Većina obolelih od GGE i NLFE nema obolelih srodnika ili nasledni obrazac ne odgovara nijednom prethodno opisanom. Kod ovih pacijenta se najverovatnije radi o ranije pominjanom kompleksnom obrascu nasleđivanja koji podrazumeva istovremenu interakciju više varijanti različite veličine efekta kao i sredinskih faktora, a poslednjih godina se sve više prepoznaje značaj i nenaslednih genetskih mehanizama u epilepsiji kao što su *de novo* varijante i somatski mozaicizam.

#### 1.6.3.4.1 *De novo* varijante u razvojnim i epileptičkim encefalopatijama

Najveći iskorak u razumevanju genetske arhitekture epilepsija je napravljen u razvojnim i epileptičkim encefalopatijama (ranije nazivanim epileptičke encefalopatije) i teškim epileptičkim sindromima detinjstva. Ove bolesti karakteriše uzrasno zavisano početak bolesti čija osovina je teška refraktarna epilepsija, praćena drugim progresivnim neurokognitivnim oštećenjima. Proboj u razumevanju njihove patogeneze je napravljen otkrićem da većina dece obolele od Dravet sindroma ima *de novo* varijante u *SCN1A* genu.

Primena WES kod trija proband-roditelji je omogućila identifikaciju velikog broja *de novo* varijanti od interesa. U jednoj ovako dizajniranoj studiji koja je uključila 264 tripleta dece sa West ili Lennox Gastaut sindromom i njihovih roditelja, autori su našli prosečno 1,25 *de novo* varijantu po tripletu, a 181 proband je bio nosilac barem jedne (Allen et al., 2013). *Missense* varijante su činile 72%, a PTV čak 7,5% svih SNV. U sličnoj studiji obolelih od D/EE, *de novo* varijante su činile čak 75% svih patogenih ili verovatno patogenih varijanti (30/41) i bile su verovatna genetska osnova bolesti kod čak 33,7% kohorte (30/89) (K. L. Helbig et al., 2016).

Ovim se nameće pitanje koji deo epileptogeneze sporadičnih čestih epilepsija se može pripisati genetskim determinantama i koji bi bili fenotipski markeri ovih poremećaja, s obzirom na to da porodična anamneza ne bi sugerisala genetsku osnovu oboljenja.

#### 1.6.3.4.2 Somatski mozaicizam

Somatski mozaicizam nastaje usled post-zigotne mutageneze i predstavlja posebnu vrstu *de novo* varijanti koje nisu prisutne u svim ćelijama organizma. Postoji nekoliko mehanizama pomoću kojih je somatski mozaicizam uključen u patogenezu epilepsije.

Prvo, kao što je već prethodno spominjano, mozaicizam je važan mehanizam u nastanku MCD koje leže u osnovi čestih fokalnih epilepsija. U studiji sa 158 sa MCD somatski mozaicizam je detektovan kod trećine obolelih sa dokazanom varijantom (Jamuar et al., 2014). U FCD je pokazan varijabilan stepen intralezionog mozaicizma u regulatorima mTOR signalnog puta koji može, ali ne mora biti udružen sa gametskom mTOR varijantom kod istog pacijenta (Marsan and Baulac, 2018).

Potom, neke prividno *de novo* varijante kod dece sa D/EE mogu biti posledica roditeljskog mozaicizma. U studiji sa 120 proband-roditelji tripleta sa *de novo* varijantom, roditeljski gonadalni mozaicizam je utvrđen kod 8,3% (96% CI 3,4-13,3) (Myers et al., 2018).

Na kraju, mozaicizam je pokazan kod 7,5% *de novo* varijanti u *SCN1A* genu i to kod obolelih sa lakšom kliničkom slikom, te su autori sugerisali da je ovo verovatno jedan od mehanizama kojim bi se mogla objasniti velika klinička heterogenost povezana sa varijantama u ovom genu (de Lange et al., 2018).

#### 1.6.3.5 Genotipsko-fenotipska heterogenost epilepsija

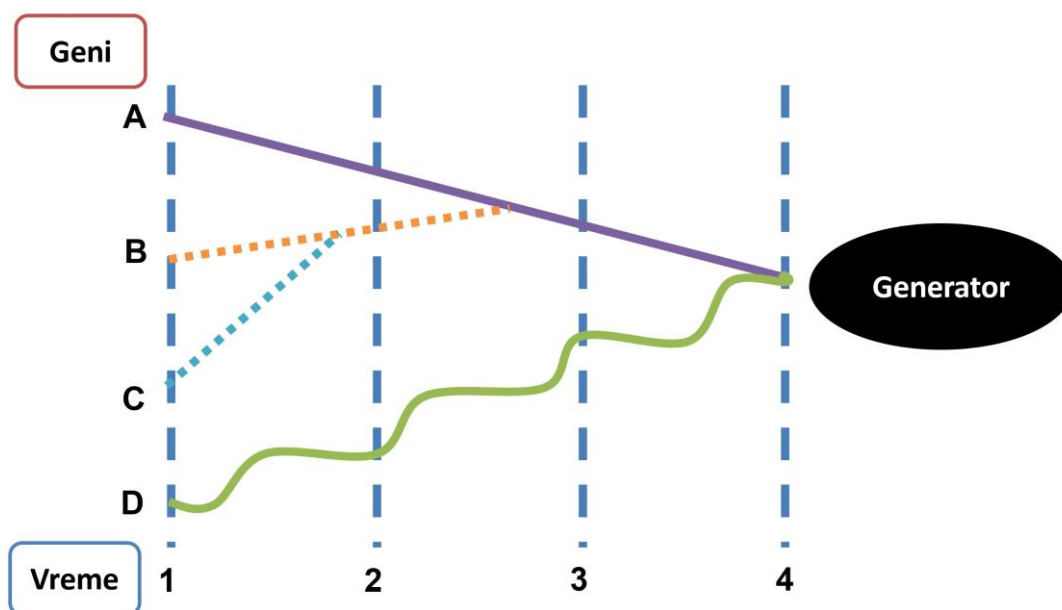
Ključni faktor koji otežava pronalazak relevantnih gena i varijanti u patogenezi epilepsije je to da geni uključeni u patogenezu epilepsije pokazuju veliku fenotipsku plejotropiju, kao i da je svaki sindrom genetski heterogen.

Fenotipska heterogenost ispoljavanja varijanti u istom genu je prepoznata u mnogim neurološkim bolestima i objašnjava se različitim tipom i lokacijom varijanti u okviru istog gena, različitim vremenom njenog nastanka, epigenetskim faktorima, kontrolnim genima, ali verovatno i mnogim do sada neprepoznatim mehanizmima. Dobar primer su varijante u *KCNQ2* genu. Varijante koje dovode do haploinsuficijencije se manifestuju kao SeLNE, blagi neonatalni i samoograničeni epileptički sindrom (Biervert and Steinlein, 1999), dok se varijante sa dominantnim negativnim efektom manifestuju kao EIDEE, teške infantilne epileptičke encefalopatije (Orhan et al., 2014).

Slično važi i za klinički definisane epileptičke sindrome koji mogu nastati usled varijanti u različitim genima ili se mogu javiti sporadično bez varijanti u do sada definisanim genima. Možda najbolji primer ovakve genotipske heterogenosti su monogeni sindromi fokalne epilepsije. Na primer, SHE može biti sporadično oboljenje ili se može javiti kao familijarna ADSHE usled varijanti u genima za nikotinske receptore, *CHRNA4*, *CHRNA2* i *CHRNA3*, ili genima GATOR1 kompleksa, ili genu za kalijumski kanal *KCNT1*, koji deli sa već pomenutom EIDEE (Nobili et al., 2014). Geni GATOR1 kompleksa (*DEPDC5*, *NPRL2* i *NPRL3*) su posebno interesantni jer su povezani sa patogeneзом praktično svih opisanih sindroma monogenske FE (Baldassari et al., 2016). Šta više, klasični sindrom u kome su prvobitno opisani, FFEVF je sama po sebi heterogeno oboljenje čija karakteristika je različit klinički fenotip kod članova iste familije (Klein et al., 2012).

Činjenica da isti epileptički sindromi mogu biti uzrokovani varijantama u različitim genima ukazuje na kompleksnost kauzalnosti u patogenezi epilepsije. Kompleksni mehanizam kauzalnosti genskih varijanti u nastanku epilepsije je prikazan na Slika 31.





Slika 31 Evolucija četiri različite etiologije u razvoju jednog fenotipa, Četiri različite genske varijante mogu vremenom dovesti do razvoja istog iktalnog generatora (linija 4), bilo direktno (puna prava linija), ili izmenom razvojnih obrazaca (isprekidana linija), bilo nekim i dalje nerazjašnjenim mehanizmom (vijugava linija). Ispitivanje etiologije ranije tokom epileptogeneze (linije 1, 2 ili 3) bi dalo utisak o različitim mehanizmima nastanka bolesti, dok bi njeno ispitivanje u krajnjoj tački evolucije (linija 4) dalo lažni utisak da se radi o jedinstvenom procesu. Adaptirano iz Engel, 2006.

#### 1.6.4 Kliničke implikacije razumevanja genetike epilepsija

##### 1.6.4.1 Prinos genetskog testiranja

Prinos genetskog testiranja zavisi od epileptičkog sindroma i odabranog testa. Postoji više modaliteta testiranja od kojih svaki ima svoje indikaciono područje, kao i prednosti i nedostatke (Tabela 14). Novije metode su zahvaljujući brzini i pristupačnoj ceni omogućili veću dostupnost genetskog testiranja u poređenju sa klasičnim metodama poput sekvenciranja Sanger-ovim metodom. Izazov danas leži u pravilnoj kliničkoj interpretaciji dobijenih rezultata. Klinički jasan ishod testiranja dobijamo u slučaju identifikacija varijanti koje su prethodno čvrsto povezane sa nastankom oboljenja, kao i potpunom odsustvo varijanti. Ipak, u realnosti, najčešći rezultat je veći broj varijanti čiji značaj nije prethodno utvrđen i koje zahtevaju pažljivo interpretaciju. Klinički značaj varijanti zavisi od poznatih fenotipsko-genotipskih korelacija, kao i osobina samih varijanti o kojima je ranije bilo reči, poput njihove veličine, funkcionalnog efekta i učestalosti u opštoj populaciji. Za brzu procenu patogenosti *missense* varijanti razvijeno je više softverskih algoritama za tzv. *in silico* predikciju. Mnogi od njih su dostupni na internetu poput PolyPhen-2 (Adzhubei et al., 2013) i SIFT (Ng and Henikoff, 2003).

Skorašnja meta analiza prinosa različitih metoda genetskog testiranja je pokazala prosečni prinos svih ispitivanih testova (CMA, sekvenciranje genskim panelima i sekvenciranje čitavog egzoma ili genoma) od 17% (95% CI 15-20%) (Sheidley et al., 2022). Najveći prinos imalo je sekvenciranje celog genoma (eng. *whole genome sequencing*, WGS) (48%, 95% CI 28-70%), WES (24%, 95% CI 18-30%), genskim panelom (19%, 95% CI 16-24%), a najmanji CMA (9%, 95% CI 7-11%). Najveći prinos testiranja genskim panelom je pokazan u grupi obolelih od D/EE (22%, 95% CI 17-27%), a najmanji u grupi NSFE (7%, 95% CI 2-21%).

Tabela 14 Dostupni testovi za kliničko testiranje pacijenta sa epilepsijom, adaptirano iz Poduri et al., 2014

Test	Opseg	Indikacija	Prednosti	Nedostaci
Kariotipizacija	Netargetirano	Sumnja na aneuploidije i hromozomske rearanžmane	Brzo i pristupačno	Mala rezolucija, osetljiv samo za krupne strukturne anomalije
CMA	Targetirano i netargetirano	Neobjašnjena epilepsija udružena sa neurokognitivnim komorbiditetima; sumnja na CNV	Simultani targetirani i netargetirani pristup; daje informacije o homozigotiji kod kosangviniteta	Može da propusti ring hromozom, osetljiv za CNV ne i indele i SNV
MLPA	Targetirano	Sumnja na bolesti povezane sa CNV u poznatim genima	Brže i pristupačnije od CMA	Osetljiv samo za CNV, ne i za indele i SNV
Sekvenciranje pojedinačnih gena	Targetirano	Sumnja na bolest povezanu sa tačno određenim genom	Brže i pristupačnije od panela	Može da propusti CNV
Genski paneli	Polutargetirano	Sindromi povezani sa više gena ili sindromi koji nisu čvrsto povezani sa pojedinačnim genima	Brže i pristupačnije od sekvenciranja celog egzoma/genoma	Može da propusti CNV
WES	Netargetirano	Sindromi bez specifičnih genskih asocijacija	Brže i pristupačnije od sekvenciranja celog genoma	Može da propusti CNV, puno incidentalnih nalaza, skupo, pokrivenost nije garantovana u svim genima
WGS	Netargetirano	Sindromi bez specifičnih genskih asocijacija	Omogućava analizu CNV	Puno incidentalnih nalaza, skupo

CMA – hromozomski mikroarej (eng. *chromosomal microarray*); CNV – varijanta broja ponovaka (eng. *copy number variant*); MLPA - multiplom amplifikacijom probe zavisnom od ligacije (eng. *multiplex ligation-dependent probe amplification*); WES – sekvenciranje celog egzoma (eng. *whole exome sequencing*); WGS – sekvenciranje celog genoma (eng. *whole genome sequencing*); SNV – varijanta pojedinačnih nukletida (eng. *single nucleotide variant*)

#### 1.6.4.2 Prognostički značaj genetske dijagnoze

Genetska dijagnoza omogućava kliničarima bolje predviđanje toka bolesti i povećava stepen pozornosti u prepoznavanju komorbiditeta asociраних sa specifičnom genetskom dijagnozom. U nekim sindromima može biti povezana sa lošijom prognozom. U studiji sa 133 deteta sa epileptičkim spazmima, oboleli sa genetskom dijagnozom su imali lošiji kognitivni ishod u odnosu na decu sa negativnim genetskim testiranjem (Yuskaitis et al., 2018b). Slično je pokazano u studiji sa 333 deteta obolela od D/EE gde su oni sa genetskom dijagnozom imali veću verovatnoću FRE (Ko et al., 2018).

Varijante u brojim genima za epilepsiju su povezani sa povećanim rizikom od SUDEP, među kojima su *DEPDC5*, *SCN1A*, *SCN8A*, *PRRT2*. Nosioci varijanti u ovim genima mogu imati česte i relativno blage NSFE, zbog čega je važno posebnu pažnju posvetiti savetovanju o preventivnim merama. U jednoj studiji autori su istakli da od šest pacijenta sa FRE kod kojih je identifikovana patogena varijanta, čak četiri može imati povećan rizik od SUDEP usled te genetske dijagnoze (Tsang et al., 2019). Pronalaženje ovih varijanti daje dragocene informacije kliničarima i utiče na njihovu odluku o informisanju pacijenata i porodica o SUDEP (Palmer et al., 2018; Shellhaas et al., 2017).

#### 1.6.4.3 Psihološki značaj dijagnoze za pacijente i porodice

Pravilno postavljanje genetske dijagnoze nudi velike benefite kako za obolelog tako i njegove srodnike, pogotovu kada je reč o bolestima sa početkom u pedijatrijskom uzrastu. Njime se često može izbeći prolongiranje skupog i često emocionalno bolnog procesa dijagnostičkog ispitivanja. Papuc i sar. su pokazali da kod pacijenata dolazi do značajne redukcije u broju hospitalizacija nakon postavljanja genetske dijagnoze, čak i onda kada je ona imala manji stepen sigurnosti (Papuc et al., 2019). Mnogi pacijenti i njihove porodice nose veliki osećaj krivice za svoju bolest zbog izlaganja rizičnom ponašanju kojem se često pripisuje prevelik značaj u nastanku bolesti. Postavljanje genetske dijagnoze je omogućilo porodicama olakšanje usled završetka dijagnostičkog procesa, doveo do smanjenja osećaja krivice i omogućio pristup grupnoj psihološkoj podršci namenjenoj obolelima od specifične bolesti (Palmer et al., 2018). Za obolele i njihove porodice, postavljanje genetske dijagnoze izmešta fokus sa traganja za uzrokom bolesti na bolje razumevanje oboljenja, očekivanih komorbiditeta i komplikacija, kao i reperkusija po pacijenta i njegovo potomstvo (Ellis et al., 2020c).

Shostak i sar. su istraživali odnos prema genetskom testiranju kod 40 (22 obolelih i 18 zdravih) članova familija sa više obolelih članova (Shostak et al., 2011). Samo tri ispitanika (od kojih je jedan oboleo od epilepsije) su odgovorila da bi odbili genetsko testiranje kada bi im bilo ponuđeno. Većina ispitanika je imala pozitivan stav prema testiranju navodeći brojne benefite uključujući razumevanje uzroka bolesti u svojoj familiji, bolju sposobnost staranja o obolelima, smanjenje osećaja krivice zbog oboljevanja, većeg osećaja kontrole, i olakšanje anksioznosti u slučaju negativnog testa kod zdravih osoba. Većina je smatrala da bi genetska dijagnoza bila značajna za donošenje odluka o reprodukciji, ali je izrazila i strah od stigmatizacije i spoljašnjih pritisaka koji bi uticali na njihove reproduktivne odluke.

Genetsko testiranje može dovesti i do negativnih emocija, poput osećaja krivice, anksioznosti, frustracije ili osećaja izopštenosti (Rosell et al., 2016). S obzirom na to da su mnoge genetske bolesti izuzetno retke, izvori informacija o njima su često skromni, a pristup drugim obolelim od iste bolesti ograničen. Kod velikog broja obolelih su rezultati testiranja negativni ili daju nesigurne rezultate, što može dovesti do razočaranja ili konfuzije.

#### 1.6.4.4 Genetsko savetovanje

Genetsko savetovanje je zaduženo da vodi pacijenta i porodicu kroz proces genetske dijagnostike i obezbedi resurse neophodne da osposobe pacijenta da donosi kompetentne informisane odluke. Savetovanje pre genetskog testiranja služi da pomogne u odlučivanju o testiranju i informiše o njegovim mogućim ishodima, posledicama po prognozu ili terapiju, kao i mogućnošću otkrivanja neočekivanih genetskih nalaza. Savetovanje posle testiranja je potrebno da obezbedi adekvatnu psihološku podršku za prihvatanje i razumevanje genetske dijagnoze, kao i pomoć u proceni rizik od rekurencije (Poduri et al., 2014). Fokus genetskog savetovanja zavisi od toga da li se radi o oboleloj osobi, zdravom srodniku ili osobi sa genetskim rizikom koja planira potomstvo.

Uprkos postojanju formalnih preporuka o genetskom savetovanju kod dece i odraslih obolelih od teških epileptičkih sindroma udruženih sa neurokognitivnim komorbiditetima (Devinsky et al., 2015; Wilmschurst et al., 2015), dostupnost genetskog savetovanja je inkonzistentno i kliničari imaju neujednačen odnos prema genetskom testiranju. Anketa sprovedena u SAD je pitala neurologe da li bi uputili osamnaestogodišnjaka sa IO i prethodnim West sindromom praćenim Lennox Gastaut sindromom na genetsko testiranje. Čak 80% dečjih neurologa je odgovorilo pozitivno dok je svega 33% adultnih neurologa učinilo isto (Ferraro et al., 2016). Ovakav raskorak ilustruje velike razlike u dostupnosti genetskog savetovanja u različitim populacijama i potrebu za boljom edukacijom kliničara o potrebi za njegovim sprovođenjem.

Postoji nekoliko kliničkih scenarija u kojima je genetsko savetovanje posebno važno koja će biti detaljnije razmotrena u narednim odeljcima.

#### 1.6.4.4.1 Varijante nepoznatog značaja

Varijante nepoznatog značaja (eng. *variants of unknown significance*, VUS) su varijante čija patogenetska uloga u nastanku bolesti nije jasna i samim tim čine poseban klinički izazov. VUS nisu retke i otkrivaju se kod približno 10% obolelih od epilepsije kod kojih je sprovedeno sekvenciranje čitavog egzoma (K. L. Helbig et al., 2016). Iako prema preporukama Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku VUS ne treba uzimati u obzir pri donošenju kliničkih odluka (Richards et al., 2015), njihova identifikacija dovodi do velike anksioznosti kod pacijenata i nedoumica kod kliničara sa malo iskustva u interpretaciji rezultata sekvenciranja. Genetsko savetovanje u tom smislu igra važnu ulogu u pripremanju pacijenta i porodice na takvu mogućnost i olakšava razumevanje njegovog značaja.

Genetsko savetovanje i dopunsko testiranje kod srodnika može pomoći u utvrđivanju patogenosti VUS. Testiranjem roditelja, ukoliko je moguće, se može utvrditi da se radi o *de novo* varijanti, koja verovatno ima kliničkog značaja. U slučaju familija sa više obolelih članova testiranjem drugih članova se može utvrditi kosegregacija VUS sa fenotipom i time potvrditi njena patogenost (Richards et al., 2015).

#### 1.6.4.4.2 Rizik od rekurencije

Jedan od najvažnijih zadataka genetskog savetovanja je da pomogne pacijentima i njihovim porodicama da razumeju rizik od rekurencije bolesti kod dece i srodnika obolelih. Ranija istraživanja su pokazala da čak trećina obolelih od epilepsije ima manje dece nego što bi voleli usled straha od prenošenja oboljenja i brige o sopstvenoj sposobnosti da brinu o deci. Šta više, oboleli su prosečno procenjivali da je rizik da njihovo dete oboli od epilepsije oko 26%, što je 4 puta veće od procenjenog rizika u populacionim studijama (Helbig et al., 2010). Zbog toga je genetsko savetovanje i informisanje o realnom riziku od rekurencije od velikog značaja.

U odnosu na rizik za oboljevanje od čestih epilepsija u opštoj populaciji, koji se procenjuje da je oko 1%, prvostepeni srodnici obolelih od GEE imaju 6-8 puta, a srodnici obolelih od NSFE 2-3 puta veći rizik od oboljevanja (Peljto et al., 2014). U slučaju utvrđenog dominantnog genetskog uzročnika, rizik od oboljevanja kod prvostepenih srodnika može biti i do 50% (redukovano za inkompletnu penetrantnost). Poseban izazov predstavlja savetovanje roditelja dece sa utvrđenom *de novo* varijantom. Naime, teorijski rizik za rekurenciju bolesti kod braće i sestara obolelih sa *de novo* varijantama je < 1%. Međutim kod i do 10% pretpostavljenih *de novo* varijanta je pokazano da su posledica gonadalnog mozaicizma roditelja koje nije moguće otkriti rutinskim testiranjem (Xu et al., 2015). U ovom slučaju, rizik od rekurencije je nepoznat, a može iznositi i do 50%, te je roditelje dece sa *de novo* varijantama ipak potrebno savetovati da je rekurencija, iako retka, ipak moguća. U novije vreme, utvrđivanje genetske dijagnoze kod roditelja ili deteta omogućava ciljano prenatalno genetsko testiranje. Papuc i sar. su prijavili da je zahvaljujući otkrivanju genetske dijagnoze kod obolelog deteta čak 19% porodica imalo benefita od ciljane prenatalne dijagnostike u narednim trudnoćama (Papuc et al., 2019).

#### 1.6.4.4.3 Neočekivani nalazi

Pacijente i njihove porodice je neophodno informisati o mogućnosti neočekivanih nalaza koji proizilaze iz sekvenciranja čitavog genoma ili egzoma. Američki koledž za medicinsku genetiku je izdvojio 59 gena za koje preporučuje prijavljivanje varijanti koje su verovatno ili moguće patogene, među kojima su geni uključeni u patogenezu malignih bolesti, geni za recesivne metaboličke poremećaje, neurokutane sindrome i mnoge druge (Kalia et al., 2017). Procenjuje se da će oko 3%

testiranih imati klinički značajne rezultate sekvenciranja čitavog egzoma, izvan onih očekivanih za indikaciju zbog koje su testirani (Dorschner et al., 2013). Pacijente i njihove porodice je neophodno informisati o ovim nalazima i uputiti na dalje praćenje od strane lekara odgovarajuće specijalnosti.

Posebno su značajni rezultati lažnog očinstva koji mogu prosteći iz sekvenciranja kod proband-roditelji tripleta. O informisanju o takvim rezultatima je neophodno razgovarati pre testiranja i obezbediti pristanak od strane pacijenata (Weber et al., 2017).

#### 1.6.4.5 Precizna medicina u epilepsijama

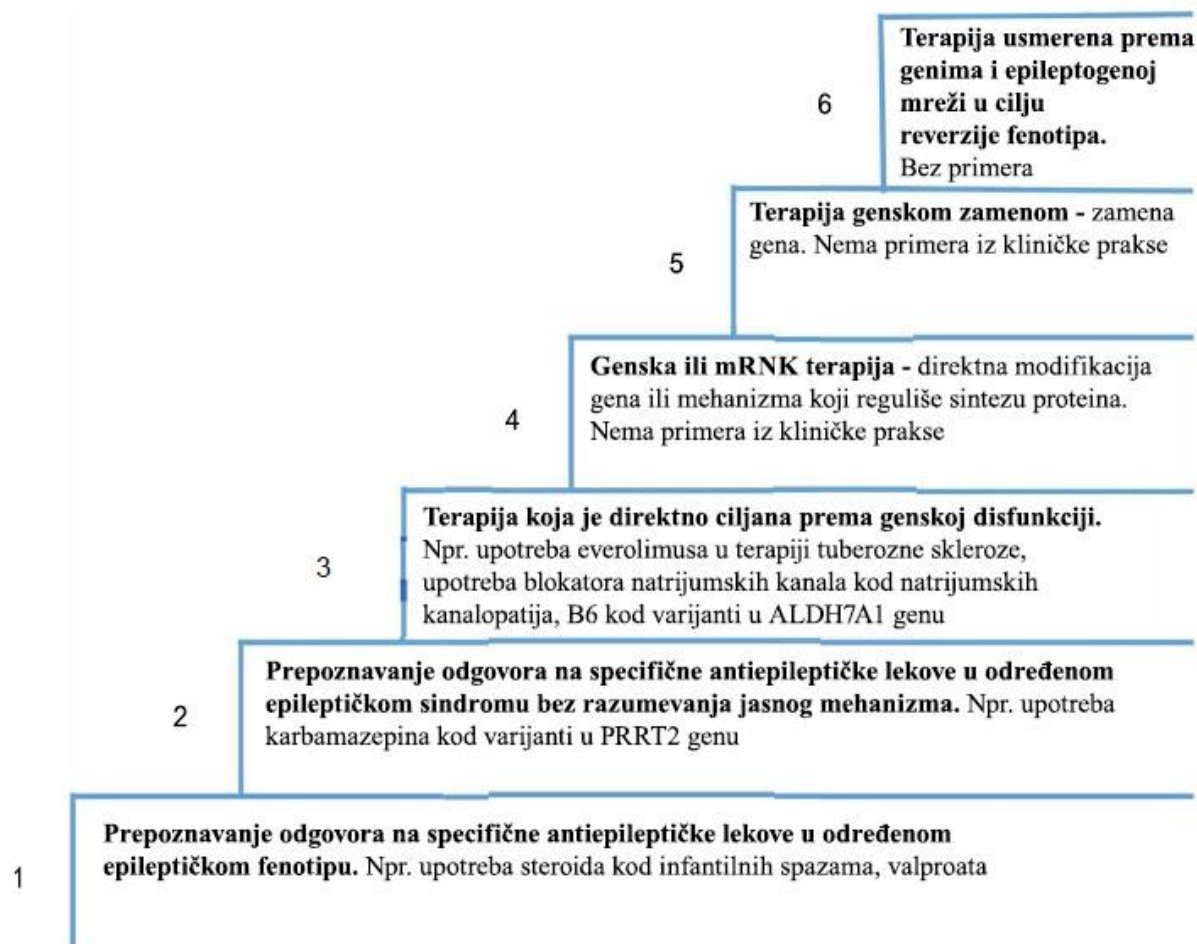
Epilepsija se tradicionalno leči po principu *jedna veličina pristaje svima* zbog čega uspešnost u njenom lečenju stagnira poslednjih nekoliko decenija, uprkos razvoju velikog broja novih terapijskih mogućnosti različitih mehanizma dejstva. Međutim, pomak u razumevanju molekularnih mehanizama epileptogeneze koji je donela genomička revolucija je otvorio vrata koncipiranju *precizne medicine*. Ovaj termin je prvi put upotrebio Jan 2002. kojim je podrazumevao terapiju vođenu molekularnim mehanizmom bolesti (Jain, 2002).

Precizna medicina se najčešće odnosi na ciljanu mehanizmom vođenu terapiju, međutim, ona se može odnositi i na predikciju toka bolesti pomoću koje se mogu navoditi terapijske odluke, kao i izbor između farmakološke i hirurške terapije.

##### 1.6.4.5.1 Ciljana mehanizmom vođena terapija

Specifične biološke karakteristike epilepsije, kao i brza ekspanzija genskog otkrića su navele neke autore da sugerišu da je epilepsija posle malignih bolesti najbolji kandidat za razvoj ciljane, mehanizmom vođene, terapije. Postojanje velikog broja laboratorijskih modela omogućava lak i brz razvoj ciljane terapije prema genetskom defektu zbog toga što je neuronalnu ekscitabilnost, koja u velikoj meri definiše fenotip u epilepsiji, lako ispitati i kvantifikovati u laboratorijskim modelima. To omogućava brzu i jeftinu procenu efikasnosti novih molekula (EpiPM Consortium, 2015). Na ovaj način, epilepsija omogućava ne samo razvoj novih već i mehanizmom vođenu prenamenu postojećih molekula.

Ciljana terapija može biti upravljena prema različitim metama u procesu patogeneze usled genskog defekta. Iz praktičnih razloga, Byrne i sar. su predložili stratifikaciju ciljane terapije u šest nivoa (Slika 32) od kojih su neki već uveliko deo kliničke prakse, dok su drugi i dalje samo teorijski koncepti (Byrne et al., 2021). Danas je u upotrebi veći broj molekula koji su svojim mehanizmom direktno upravljani na disfunkciju proteinskog produkta nastalog kao rezultat genske varijante (Tabela 15). Njihova klinička efikasnost, sa izuzetkom everolimusa, nije dokazana u kliničkim studijama već se oslanja na manje serije ili prikaze slučajeva, ali je veći broj studija u toku.



Slika 32 Nivoi ciljane mehanizmom vođene terapije, adaptirano iz Byrne et al., 2021

Međutim, uprkos inicijalnom optimizmu, revolucionarni pomak koji je viđen u dijagnostici genetskih epilepsije nije bio praćen terapijskim uspehom. Balstrini i sar. su analizirali efekat precizne medicine kod 293 pacijenata sa genetskom dijagnozom epilepsije. Ova studija je pokazala da iako je racionalno ciljano lečenje bilo moguće kod 19% pacijenata, takav pristup je bio sproveden kod svega 11%, a dao je klinički značajno poboljšanje bolesti kod 3% pacijenata (Balestrini et al., 2021). Autori su među uzrocima retkog uvođenja ciljane terapije istakli nedostupnost specifičnih lekova koji postoji usled prepisivačkih restrikcija u nekim zemljama kao što je u slučaju everolimusa koji je efikasan u mTORopatijama.

Tabela 15 Ciljana terapija upravljena prema disfunkciji proteinskog produkta

Gen	Fenotip	Mehanizam	Potencijalna ciljana terapija
SCN1A	DS GEFS+, MTLE	Nav1.1 LOF u inhibitornim interneuronima	Aktivator Nav1.1 iz paukovog otrova <sup>1</sup> (animalne studije DS)  Izbegavati blokatore Nav1.1 poput CBZ, OXC, PHT, LTG <sup>2</sup>
SCN2A	SeLNIE, EIDEE	Nav1.2 GOF (rani početak bolesti) Nav1.2 LOF (kasni početak bolesti)	Supraterapijske doze PHT (kod epilepsije ranog početka) <sup>3</sup> Izbegavati blokatore Na kanala (kod epilepsije kasnog početka) <sup>4</sup>

SCN8A	EIDEE/ SeLIE, PKD	Nav1.6 GOF	PHT <sup>5</sup> Selektivni Nav1.6 blokator XEN901 <sup>6</sup> NaV <sub>1.6</sub> modulator GS458967 <sup>7</sup>
KCNQ2	EIDEE/ SeLNE	Kv7.2 LOF koja dovodi do Nav GOF	CBZ, OXC, PHT <sup>8,9</sup> Retigabin XEN496 <sup>10</sup>
KCNT1	ADSHE/EIDEE/ EIMFS	K <sub>Na</sub> 1.1 GOF	Kinidin (samo kod EIDEE i EIMFS) <sup>11,12</sup>
KCNA2	EIDEE	Kv1.2 GOF ili LOF	4-Aminopiridin (samo GOF varijante) <sup>13</sup>
TSC1 /TSC2	TSC	Hiperaktivnost mTOR singlnog puta	Everolimus <sup>14</sup> Vigabatrin <sup>15, 16</sup>
DEPDC5/ NPRL2/ NPRL3	FFEVF, ADSHE, FMTLE	Hiperaktivnost mTOR singlnog puta	Everolimus <sup>17, 18</sup>
SLC2A1	GGE, PKD	GLUT1 deficijencija	Ketogena dijeta <sup>19</sup> Modifikovana Atkins dijeta
GRIN2A/GRIN2B	ADRES/D/LKS/ D/EE-SWAS	GOF GluN2A i GluN2B ili LOF GluN2A	Memantin (samo GOF varijante) <sup>20,21</sup> L-serin (samo LOF varijante) <sup>22</sup>
PCDH19	EIDEE	Smanjena neurosteroidna ekspresija	Ganaksolon <sup>23</sup>
ALDH7A1	EPD	Inaktivacija piridoksal fosfata	Piridoksin <sup>24</sup>

DS – Dravet sindrom, GEFS+ – genetska epilepsija sa febrilnim napadima plus (eng. *genetic epilepsy with febrile seizures plus*), FMTLE – familijarna meziotemporalna epilepsija (eng. *familial mesial temporal lobe epilepsy*), SeLNE – samoograničena neonatalna/infantilna epilepsija (eng. *selflimited neonatal infantile epilepsy*), EIDEE – rana infantilna razvojna/epileptička encefalopatija (eng. *early infantile developmental epileptic encephalopathy*), SeLIE – samoograničena infantilna epilepsija (eng. *selflimited infantile epilepsy*), PKD – paroksizmalne kineziogenediskinezije; SeLNE – samoograničena neonatalna epilepsija (eng. *selflimited neonatal epilepsy*), ADSHE – autozomno dominantna hiperomotorna epilepsija povezana sa spavanjem (eng. *autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy*), EIMFS – infantilna epilepsija sa migrirajućim fokalnim napadima (eng. *epilepsy of infancy with migrating focal seizures*), TSC – kompleks tuberozne skleroze (eng. *tuberous sclerosis complex*), FFEVF – familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima (eng. *familial focal epilepsy with variable foci*), GGE – genetska generalizovana epilepsija; ADRESD – autozomno dominantna rolandička epilepsija sa dispraksijom govora (eng. *autosomal dominant rolandic epilepsy with speech dyspraxia*), LKS – Landau-Kleffner sindrom, D/EE-SWAS – razvojna i/ili epileptička encefalopatija sa šiljak talas aktivnošću u spavanju (eng. *developmental and/or epileptic encephalopathy with spike-wave activation in sleep*), EPD – epilepsija zavisna od piridoksina (eng. *pyridoxine dependant epilepsy*), LOF – gubitak funkcije (eng. *loss of function*), CBZ – karbamazepin (eng. *carbamazepine*), OXC – okskarbazepin (eng. *oxcarbazepine*); PHT – fenitoin (eng. *phenitoin*), LTG – lamotrigin; 1 Richards et al., 2018, 2 Shi et al., 2016, 3 Wolff et al., 2017, 4 Sanders et al., 2018, 5 Boerma et al., 2016, 6 Bialer et al., 2018, 7 Baker et al., 2018, 8 Pisano et al., 2015, 9 Sands et al., 2016, 10 “Xenon Pharmaceuticals,” 2022, 11 Bearden et al., 2014, 12 McTague et al., 2018, 13 Hedrich et al., 2021, 14 French et al., 2016, 15 Schubert-Bast et al., 2019, 16 Jozwiak et al., 2019, 17 Yonsei University, 2021, 18 Leitner et al., 2022, 19 Klepper et al., 2004, 20 Pierson et al., 2014, 21 Platzer et al., 2017, 22 Krey et al., 2022, 23 Sullivan et al., 2023, 24 van Karnebeek et al., 2016

#### 1.6.4.5.2 Procena rizika od recidiva napada

Jedan od najvećih kliničkih izazova u radu sa pacijentima sa epileptičkim napadima je pravilna procena rizika od recidiva napada, a samim tim i adekvatnosti postavljanja dijagnoze epilepsije posle prvog neprovociranog epileptičkog napada. Jedna od mogućih strategija je upotreba poligenetskih skorova rizika (PSR). PSR su aditivni modeli za procenu rizika od bolesti koji su zasnovani na analizi SNP izolovanih u GWAS (Khera et al., 2018). Speed i sar. su zaključili da modeli zasnovani na PSR mogu objasniti i do 10% predispozicije za recidive napada, što bi u kontekstu drugih kliničkih podataka moglo da pomogne u identifikovanju onih pacijenata koji bi imali najveći benefit od uvođenja terapije nakon prvog napada (Speed et al., 2014).

### 1.6.4.5.3 Selekcija pacijenata za hirurško lečenje epilepsije

Mnogi pacijenti sa genetski determinisanom fokalnom epilepsijom imaju FRE i po svojim kliničkim karakteristikama se ne razlikuju od drugih pacijenata koji se razmatraju kao kandidati za hirurško lečenje epilepsije. Ipak, vrlo malo je poznato o ishodu hirurškog lečenja kod ovih pacijenata. Među njima mnogi imaju NLFE koja zahteva invazivnu prehiruršku evaluaciju uprkos kojoj imaju znatno lošiji očekivani uspeh u kontroli epileptičkih napada (Moon et al., 2016).

Stevelink i sar. su obavili sistematski pregled literature o hirurškim ishodima kod pacijenta sa FRE povezanom sa patogenim genskim varijantama (Stevelink et al., 2018). Većina analiziranih studija su bile prikazi slučaja ili manjih serija. Analiza je obuhvatila ukupno 82 pacijenata koji su klasifikovani prema funkciji gena sa patogenom varijantom. Među obolelima od epilepsije udružene sa varijantama u jonskim kanalima ili proteinima uključenim u sinaptičku transmisiju je svega 14% (2/14) operisanih bilo BN posle operacije. Među obolelima sa *SCN1A* patogenim varijantama (8 pacijenta), nijedan nije bio BN posle operacije, čak ni oni sa vidljivim lezijama na preoperativnom MR mozga, među kojima su bila dva pacijenta sa HS i dva sa FCD. Interesantno je da su jedina dva operisana pacijenta koji su bili BN u ovoj grupi bili nosioci patogenih varijanti u *SCN1B* genu. Sa druge strane, među operisanim pacijentima sa patogenim varijantama u regulatorima mTOR signalnog uputa i pacijentima sa drugim genetski determinisanim oboljenjima udruženim sa epilepsijom poput neurofibromatoze tip1, mikrodelecionih sindroma, sindroma fragilnog X ili mitohondrijskih bolesti, je uspešnost hirurškog lečenja bila približno jednaka onoj koja se očekuje kod obolelih od sporadične FE (58% BN među mTORopatijama i 63% BN u grupi ostalih genskih sindroma). Uspešnost operativnog lečenja među NLFE je bila slična onoj kod sporadične FE i značajno manja u odnosu na pacijente sa vidljivom EL (33% vs. 66% operisanih BN).

Iako se radi o analizi malog broja pacijenata, ovi rezultati upućuju na nekoliko važnih zaključaka. Prvi je da je moguće da patogene varijante u genima koji kodiraju jonske kanale (pogotovu *SCN1A*) ili molekule uključene u sinaptičku transmisiju dovode do globalnog poremećaja neuralne transmisije te je malo verovatno da ograničena resekcija može dovesti do potpune kontrole bolesti, čak i kod pacijenata sa MR vidljivom. Izuzetak izgleda čine patogene varijante u *SCN1B* genu. Autori su predložili moguće objašnjenje za ovaj fenomen. Naime, *Scn1b* knockout miševi imaju poremećaj neuronalne proliferacije i migracije u hipokampusu što prethodi poremećaju ekscitabilnosti (Brackenbury et al., 2013). Ovo sugeriše da patogene varijante u *SCN1B* mogu direktno dovesti do nastanka EL koje dovode do epilepsije, dok je u kod defekta u drugim genima iz ove grupe EL verovatno posledica sekundarne epileptogeneze i odražava samo dao kompleksne etiologije bolesti. Drugi je da oboleli od mTORopatija verovatno imaju epilepsiju povezanu za fokalnom izmenom kortikalne ekscitabilnosti zbog čega je bolest moguće uspešno lečiti hirurgijom. Germinativne varijante u mTOR genima verovatno nisu dovoljne za nastanak bolesti i moguće je da kod njih epileptogeneza zahteva *drugi udarac* (eng. *second hit*), kao što je na primer somatsku, varijantu u okviru same lezije. Zbog toga moguće je da bi u budućnosti skrining hirurških kandidata za varijante u navedenim genima mogao da ima veliki značaj pri opredeljivanju za operativno lečenje.

Novije studije su definisale nov patohistološki entitet – blagu malformaciju kortikalnog razvoja sa oligodendroglijalnom hiperplazijom (eng. *mild malformation of cortical development with oligodendroglial hyperplasia in epilepsy*, MOGHE) povezanu sa somatskim varijantama u *SLC35A2* genu (Sim et al., 2018). U nekim studijama ovakve promene su zastupljene kod približno 20% pacijenata sa NLFE ili onom sa blagim malformacijama kortikalnog razvoja koji su negativni na varijante u genima uključene u mTOR signalni put (Sim et al., 2018). Ove varijante kao biohemijsku posledicu imaju poremećaj N-glikozilacije usled redukovano vezivanja galaktoze za N-acetilglukozamin (Barba et al., 2023). Operativni ishod kod ovih pacijenata je sličan kao kod drugih pacijenata sa malformacijama kortikalnog razvoja ali je moguće da suplementacija D-galaktozom



može uticati na operativni ishod (Aledo-Serrano et al., 2023), a u perspektivi možda čak i omogućiti izbegavanje operativnog lečenja.

## **1.7 Rezime**

Iz svega navedenog je jasno da je etiologija fokalne epilepsije najvažniji prediktor kliničkog toka bolesti, odgovora na antiepileptičku terapiju, kao i ishoda njenog hirurškog lečenja, ali je za pacijente bez poznatog stečenog kauzalnog činioca ona često nedovoljno razjašnjena. Moderno shvatanje etiološke paradigme nestečene fokalne epilepsije uzima u obzir međusoban odnos više etioloških činilaca koji združeno determinišu način ispoljavanja bolesti, kao i njen odgovor na različite terapijske modalitete. Među njima, verovatno centralno mesto zauzimaju genetske determinante koje direktno ili posredstvom strukturnih poremećaja do kojih dovode, definišu nove kliničke kategorije pacijenata koje zahtevaju specifičan dijagnostički i terapijski pristup. U tom kontekstu je bolje razumevanje učestalosti varijanti u specifičnim genima kao i genotipsko-fenotipskih korelacija neophodan korak u definisanju dijagnostičkih strategija i formulaciji holističkog terapijskog pristupa pacijentima sa nestečenom fokalnom epilepsijom i njihovim porodicama.



## 2 Ciljevi istraživanja

1. Utvrditi učestalost nestečene i stečene fokalne epilepsije u grupi pacijenata ispitivanih u centru za epilepsiju zdravstvene ustanove tercijernog nivoa;

2. Utvrditi učestalost pozitivne porodične anamneze na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad ili febrilne napade među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom;

3. Utvrditi kliničke i radiološke karakteristike bolesnika sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom;

4. Utvrditi kliničke i radiološke karakteristike bolesnika sa nestečenom fokalnom epilepsijom i to sa i bez pozitivne porodične anamneze;

5. Utvrditi učestalost ultra-retkih varijanti u najčešćim genima povezanim sa nastankom FE (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A* i *PCDH19*), u ispitivanoj grupi pacijenata sa nestečenom fokalnom epilepsijom

6. Utvrditi kliničke, radiološke i elektroencefalografske karakteristike nosilaca varijanti u selektovanim genima.



## 3 Materijali i metode

### 3.1 Pacijenti

U studiju su uključeni konsekutivni pacijenti ispitivani u Centru za epilepsije i poremećaje spavanja, Klinike za neurologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije u periodu od 01. aprila 2008. do 01. novembra 2019. godine. U ovom periodu je u ispitano 1354 pacijenta koji su upućeni zbog:

1. Diferencijalne dijagnoze paroksizmalnih događaja
2. Određivanje sindromske dijagnoze epilepsije
3. Prehirurške evaluacije

Rezultati dijagnostičke obrade su retrospektivno analizirani. Dijagnostički protokol se sastojao od detaljne epileptološke anamneze, somatskog i neurološkog pregleda, kontinuiranog video-EEG telemetrijskog monitoringa (VEM) u trajanju od barem 96 h, MR mozga po epileptološkom protokolu i neuropsihološkog testiranja. Epileptološka anamneza je uzimana pomoću semistruktuisanog upitnika od strane lekara na obuci uz nadzor neurologa usko specijalizovanog iz oblasti epileptologije. Porodična anamneza o epilepsiji, febrilnim ili jednom spontanom epileptičkom napadu je, prema preporuci, uzeta od najstarijeg ženskog srodnika, kada god je to bilo moguće (Thomas and Berkovic, 2014). Kod pacijenata kod kojih nije snimljen dovoljan broj habitualnih napada, VEM je ponovljen. U situacijama u kojima rezultati VEM, MR mozga i neuropsihološkog testiranja nisu bili dovoljni za donošenje definitivne odluke o lobarnoj dijagnozi i daljem terapijskom postupku učinjena je dopunska dijagnostika, u vidu funkcionalnog neuroimidžinga nekom od metoda nuklearne medicine što je podrazumevalo:

1. Interiktalnu PET uz primenu fluorodeoksiglukoze (FDG) obeležene radioaktivnim fluorom  $F^{18}$ ;
2. Ikalnu emisionu tomografiju pojedinačnim fotonima (eng. *single photon emission computed tomography*, SPECT) uz primenu heksametil-propilen-amin oksima (HMPAO) obeleženog radioaktivnim tehnecijumom  $Tc^{99m}$ .

Rezultati dijagnostičke obrade su sagledani u okviru Epileptološkog konzilijuma koji se sastojao od više neurologa uže specijalizovanih iz oblasti epileptologije i neurofiziologije, neurohirurga, neuropsihologa, specijaliste nuklearne medicine, patologa i psihijatra. U okviru Konzilijuma je doneta definitivna dijagnoza epilepsije ili drugih paroksizmalnih događaja kad god je to bilo moguće. Kod pacijenata sa dijagnozom epilepsije određena je dijagnoza tipa epilepsije (GE, FE, KGFE ili NE) prema novoj ILAE klasifikacije epilepsija iz 2017. godine (Scheffer et al., 2017). Pacijenti dijagnostikovani pre 2017. godine su naknadno reklasifikovani u odgovarajuću grupu od strane dva nezavisna ispitivača (MK i NV). Konflikta u klasifikaciji su razrešeni konsenzusom između ispitivača. U slučajevima u kojima nije bilo moguće postići konsenzus o dijagnozi, pacijenti su klasifikovani prema stavu seniorskog ispitivača (NV).

Kod pacijenata kod kojih je postavljena dijagnoza FE je doneta dijagnoza lobarnog sindroma, kao i dijagnoza verovatne strukturne etiologije prema radiološkom nalazu kod pacijenata sa registrovanom EL ili drugim radiološkim nalazom koji upućuje na dijagnozu povezanu sa epilepsijom, kada god je to bilo moguće. Postavljanje lobarne dijagnoze je vršeno kroz tri jasno definisana koraka:

1. Analiza anamneze, anamnestičkog opisa habitualnih napada i video zapisa registrovanih napada u cilju definisanja *kliničkog sindroma*;
2. Analiza iktalnog/interiktalnog nalaza i korelacija sa prethodno formulisanom kliničkom hipotezom u cilju definisanja *elektro-kliničkog sindroma*;

3. Analiza neuroradioloških nalaza i korelacija sa prethodno formulisanom elektro-kliničkom hipotezom u cilju definisanja *lobarne dijagnoze*.

Sinteza lokalizacionih podataka iz svakog navedenog izvora je vršena poštujući tzv. *princip podudarnosti*. U situacijama u kojima su klinička, neurofiziološka i radiološka lokalizacija bili konkordantni postavljena je dijagnoza jednog od lobarnih sindroma:

1. Epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*, TLE);
2. Epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*, FLE);
3. Epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior quadrant epilepsy*, PQE);
4. Epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*, ILE);
5. Epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe plus epilepsy*, TLE+).

U situacijama u kojima su postojali diskordantni lokalizacioni podaci, postavljena je dijagnoza *neutvrđene lobarne dijagnoze*. U situacijama u kojima su svi lokalizacioni podaci diskordantni, konačna dijagnoza je bazirana na kliničko elektroencefalografskim korelacijama. U slučajevima kada su postojale atipičnosti ili širok i nespecifičan klinički ili elektroencefalografski nalaz ispitivanje je dopunjeno funkcionalnim tehnikama nuklearne medicine. Pacijenti sa FLE, PQE, ILE i TLE+ su zajedno činili grupu pacijenata sa ekstratemporalnom epilepsijom (eng. *extratemporal lobe epilepsy*, ETLE)

Potom je doneta odluka o daljem lečenju u smislu nastavka farmakoterapije, upućivanja na resektivno hirurško lečenje ili implantaciju stimulatora nervusa vagusa (eng. *vagus nerve stimulator*, VNS).

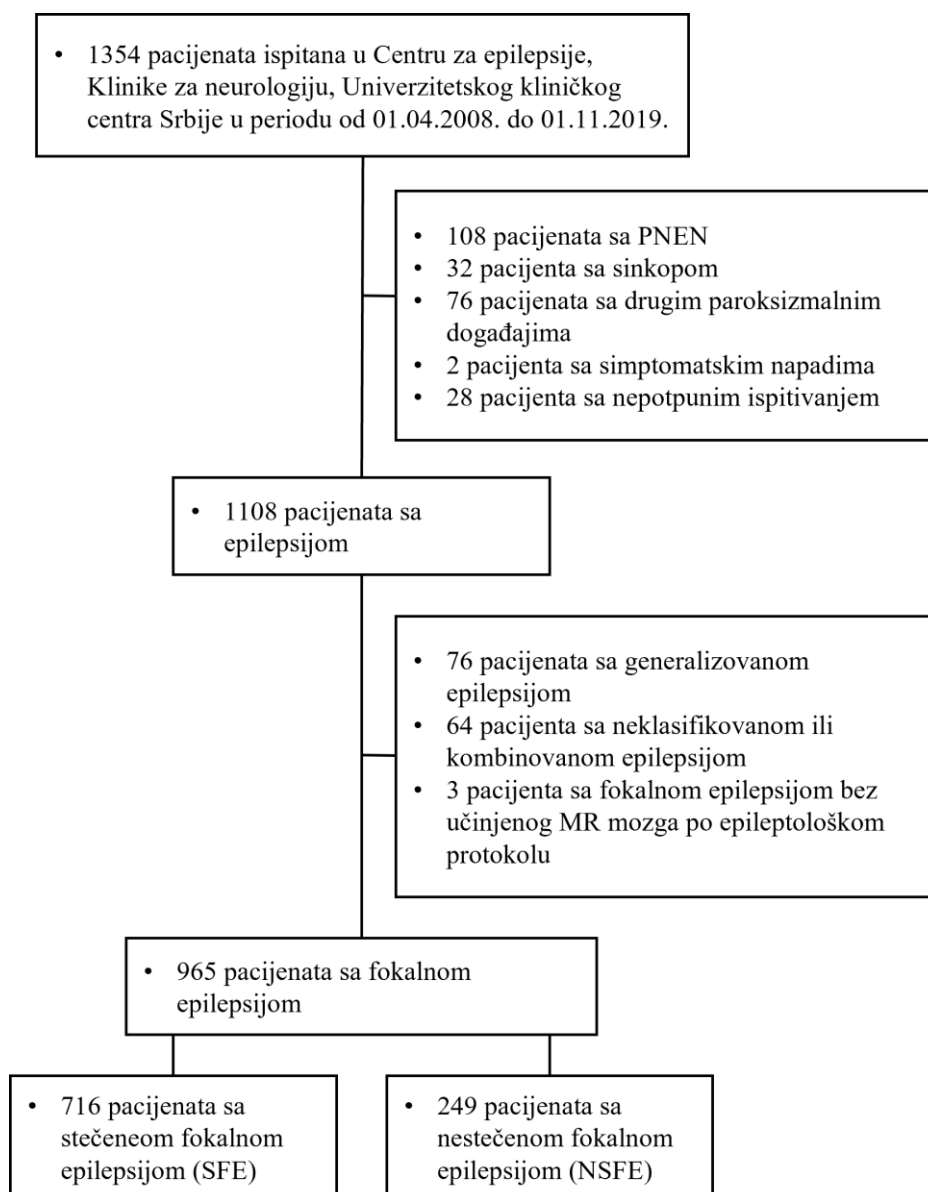
Kriterijumi za uključenje u studiju su bili:

1. Sprovedeno ispitivanje koje omogućava postavljanje konačne dijagnoze koji je obuhvatao VEM uz strukturni neuroimidžing (CT ili MR)
2. Dijagnoza FE koja zadovoljava kriterijume ILAE klasifikacije epilepsija iz 2017. godine (Scheffer et al., 2017)
3. Učinjena MR mozga prema epileptološkom protokolu koji će biti detaljno objašnjen u daljem tekstu (3.2.2)

Kriterijumi za isključenje iz studije su bili:

1. Dijagnoza neepileptičkih paroksizmalnih događaja bez dijagnoze komorbidne epilepsije
  - a. Pacijenti koji su imali komorbiditet epilepsije i drugih paroksizmalnih događaja nisu bili isključeni iz studije pod uslovom da su zadovoljeni kriterijumi za postavljanje dijagnoze FE
2. Dijagnoza simptomatskih epileptičkih napada
3. Dijagnoza GE, KGFE ili NE

Detaljan algoritam za selekciju pacijenata je prikazan na Slika 33



Slika 33 Algoritam za selekciju pacijenata, PNEN – psihogeni neepileptički napadi

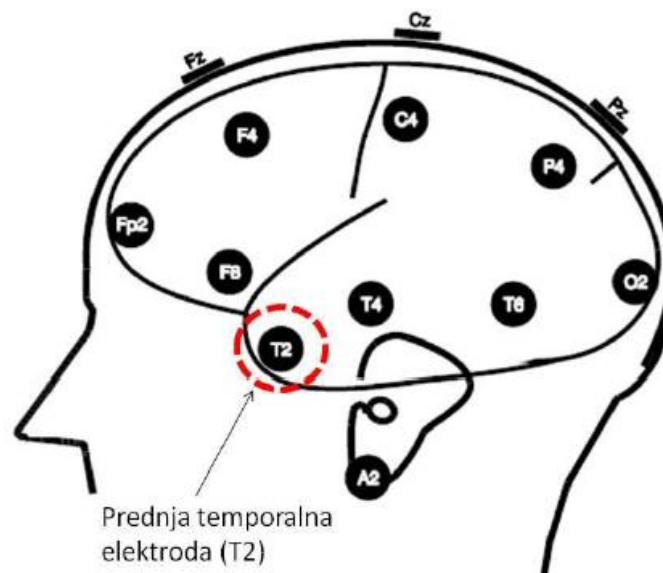
MR mozga kao i neuroradiološki izveštaji 965 pacijenata sa FE uključenih u studiju su klasifikovani u grupu NSFE ili grupu SFE prema protokolu navedenom u daljem tekstu (Poglavlje 3.2.2).

Među preostalim pacijentima sa NSFE su identifikovani pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad ili febrilne napade među srođnicima do III stepena srodstva (prosečno 12,5% genetske konkordantnosti (“Third degree relative,” n.d.)).

## 3.2 Dijagnostičke procedure

### 3.2.1 Dugotrajni video-EEG telemetrijski monitoring

Video-EEG monitoring kod ispitanika je obavljen u standardnom trajanju od 96h (od ponedeljka do petka iste nedelje). Kod pacijenta kod kojih nije snimljen svaki tip napada u dovoljnom broju radi donošenja definitivnog zaključak, VEM je ponovljen.



Slika 34 Pozicija elektroda po Međunarodnom 10-20 sistemu uz priključenu prednju temporalnu elektrodu (desna polovina poglavine)

Kalajne elektrode su raspoređene prema Međunarodnom 10-20 sistemu uz upotrebu dodatnih, prednje-temporalnih elektroda (T1, T2) 10-10 sistema Slika 34 (Klem et al., 1999, p. 10; Lüders and Noachtar, 2000). Elektrode su zalepljene za poglavinu primenom kolodijuma i ubačene u šezdesetčetvorokanalno pojačalo Viasys Nicolet sistema (Nicolet c64 pojačalo) koje ima analogno-digitalni konverter od 22 bita i DC offset toleranciju  $\pm 220$  mV. Stopa uzorkovanja (eng. sampling rate) tokom akvizicije EEG signala je bila 256 Hz. Senzitivnost je standardno podešena na  $70\mu\text{V}/\text{mm}$ , gornji filter na 70 Hz, donji filter na 1,6 Hz i filter za artefakte frekvence iz strujne mreže (eng. *notch filter*) na 50 Hz. Signal je sa pojačala prenošen na akvizicionu stanicu (CPU Intel® Pentium Core 2 duo 2,1 GHz, 2GB RAM, OS – Microsoft® Windows® XP Professional).

### 3.2.1.1 Redukcija ili obustava antiepileptičkih lekova

Antiepileptički lekovi su redukovani ili obustavljeni u cilju povećanja prinosa napada tokom monitoringa. Protokol za redukciju ili obustavu terapije je definisan prema habitualnoj učestalost napada:

1. Kod pacijenata sa više od tri napada nedeljno terapije je prepolovljena prvog dana monitoring i dalje redukovana do potpune obustave četvrtog dana ukoliko nisu registrovani napadi;
2. Kod pacijenata sa manje od tri napada nedeljno, ali veća od jednom mesečno terapija je prepolovljena prvog dana monitoringa i potpuno isključena drugog dana, ukoliko nisu registrovani napadi;
3. Kod pacijenata sa manje od jednog napada mesečno terapije je prepolovljena dan pre ulaska u jedinicu za VEM u bolničkim uslovima, a prvog dana monitoring je potpuno obustavljena;
4. Kod pacijenata kod kojih je učestalost napada manja od jednom u dva meseca terapija je potpuno obustavljena pre ulaska u jedinicu za VEM u bolničkim uslovima.

U slučaju pojave klastera napada primenjena je intramuskularna injekcija 5mg midazolama praćena brзом intravenskom infuzijom midazolama 15mg ili diazepamom 10mg u fiziološkom rastvoru tokom 10min ili 30min. U slučaju pojave epileptičkog statusa primenjena je antistatusna terapija prema preporukama (Brophy et al., 2012).



### 3.2.1.2 Kliničke karakteristike napada

Pacijentima je data instrukcija da epileptičku auru obeleže pritiskom na predviđeno dugme koje se nalazilo uz pojačalo koje je pacijent nosio oko pojasa. Klinički početak napada je označen kao vreme pritiskanja dugmeta koje označava početak aure ili prvi vidljivi klinički znak koji sigurno pripada epileptičkom napadu, a ne normalnom ponašanju pacijenta. Za svaki napad je zabeleženo vreme nastanka. Napadi su klasifikovani na osnovu Lüders-ove semiološke klasifikacije napada (Lüders et al., 1998) koja je u upotrebi u našem centru. Napadi kod pacijenata u ugnježdenoj genetskoj studiji su naknadno reklasifikovani da bi se uskladili sa terminologijom nove ILAE klasifikacije napada (Fisher et al., 2017).

### 3.2.1.3 Interiktalni i iktalni EEG

Digitalni EEG zapis je analiziran vizuelnom inspekcijom od strane sertifikovanog elektroencefaloografera (MK, NV, AR) na kompjuterskom monitoru. Analiza zapisa je vršena bez prethodnog znanja o lokalizaciji epileptogene lezije. Morfologija, distribucija i lokalizacija interiktalne aktivnosti kao i svake aktivnost u okviru iktalnog zapisa je analizirana u longitudinalnog bipolarnoj montaži (tzv. *dvostrukoj banani*) sa umetnutim prednjim temporalnim (T1/T2) elektrodama i verifikovana u barem jednoj referentnoj montaži ili bipolarnoj transverzalnoj ili cirkumferencijalnoj (tzv. eng. *hat band*) montaži. Klasifikacija patološke aktivnosti je vršena prema Lüders-ovoj klasifikaciji EEG obrazaca (Lüders and Noachtar, 2000).

Finalni zaključak o lokalizaciji interiktalnog ili iktalnog EEG je razmatran od strane barem još jednog sertifikovanog elektroencefaloografera u okviru Epileptološkog konzilijuma i definitivna klasifikacija je doneta na osnovu konsenzusa. Kada konsenzus nije bilo moguće postići, napadi su klasifikovani prema odluci seniorskog elektroencefaloografera (NV).

### 3.2.2 *Magnetna rezonanca mozga*

Magnetna rezonanca (MR) mozga je obavljena na dva aparata snage magnetnog polja 1,5 T (Avanto Simens od 2008. do 2011. godine i Achieva Phillips od 2011. do 2019. godine) po protokolu za fokalne epilepsije (Elger and von Oertzen, 2004) koji je podrazumevao:

1. Trodimenzionalnu T1 volumetrijsku akviziciju;
2. Standardnu T1 akviziciju u sagitalnoj ravni sa debljinom preseka od 5 mm;
3. Akviziciju u T2 i FLAIR (eng. *fluid attenuated inversion recovery*) sekvencama u koronarnoj ravni sa debljinom preseka od 3 mm u regiji od interesa (aproksimativno polovina mozga);
4. Akviziciju u T2 i FLAIR sekvenci i u aksijalnoj ravni sa debljinom preseka od 5 mm;
5. Akvizicija u T2\* GRE (eng. *gradient echo image*) u aksijalnoj ravni sa debljinom preseka od 5 mm;
6. Akvizicija u T1 IR (eng. *inversion recovery*) u koronarnoj ravni sa debljinom preseka od 5 mm.



Slika 35 Orijentacija uzdužne osovine temporalnog režnja (Hip) i osovine koja spaja anteriornu i posteriornu komisuru (AC-PC osovina), preuzeto uz odobrenje iz Vojvodić, 2012

U zavisnosti od postavljene elektro-kliničke dijagnoze kod pacijenta je rađena MR mozga po protokolu za temporalnu epilepsiju, sa preseccima u parakoronarnoj, odnosno paraaksijalnoj ravni, (ortogonalno, odnosno paralelno u odnosu na uzdužnu osovinu temporalnog režnja) ili protokolu za ekstratemoralnu epilepsiju, sa preseccima u koronarnoj, odnosno aksijalnoj ravni (ortogonalno, odnosno paralelno sa osovinom koju grade prednje i zadnja moždana komisura) sa tankim preseccima u regiji od interesa.

Snimci su pregledani i opisani od strane neuroradiologa edukovanog u polju epileptologije. Potom su snimci reevaluirani od strane članova Epileptološkog konzilijuma, kada je donet konačan zaključak o etiološkoj dijagnozi kao i lobarnoj dijagnozi. Pacijenti sa nelezionim 1,5 T MR snimkom su upućeni na ponovni MR mozga sa trodimenzionalnom (3D) FLAIR sekvencijom na aparatu od 3 T (Skyra, Simens).

Snimci su za potrebe studije reevaluirani od strane dva nezavisna ispitivača (MK i NE) koji su vršili klasifikaciju neuroradiološki postavljene etiološke dijagnoze u jednu od sledećih kategorija:

1. Neleziona epilepsija;
2. HS;
3. FCD;
4. Druge kongenitalne malformacije:
  - a. Kolpocefalija sa ili bez agenezije corpus-callosum-a
  - b. Hemimegalencefalija;
  - c. Polimikrogirija;
  - d. Heterotopija sive mase;
  - e. Kongenitalni hidrocefalus;
  - f. Hamartomi;
  - g. Kortikalni tuberi;

5. Tumori;
6. Glioze nakon moždanog udara, traume, infekcije ili prethodne operacije;
7. Autoimuna epilepsija;
8. Vaskularne malformacije;

Potom su za potrebe statističke analize pacijenti prema etiološkoj dijagnozi grupisani u sledeće grupe:

1. Neleziona fokalna epilepsija (NLFE);
2. HS;
3. Kongenitalna i perinatalna etiologija (KPE), u koje su uključeni pacijenti sa FCD, oni sa drugim kongenitalnim malformacijama, kao i pacijenti sa gliozom usled potvrđene hipoksičko-ishemijske encefalopatije (HIE);
4. Stečene fokalne epilepsije u koje su uključeni pacijenti sa tumorima, gliozom izuzev one koja je nastala kao sekvela potvrđene HIE, autoimunom epilepsijom i vaskularnim malformacijama.

Pacijenti sa nelezionom epilepsijom, HS i kongenitalnom etiologijom su zajedno činili grupu nestečenih fokalnih epilepsija (NSFE) koja je konstituisala ciljnu, dok je grupa pacijenata sa stečenom fokalnom epilepsijom (SFE) konstituisala kontrolnu grupu.

### 3.2.3 Funkcionalne tehnike nuklearne medicine

Funkcionalna ispitivanja su sprovedena u cilju određivanja lobarne dijagnoze i lokalizovanja epileptogene zone i nisu uključena u statističku obradu u okviru ove studije. Nalazi su posebno analizirani kod pacijenta uključenih u Ugnježdenu molekularno-genetičku analizu i prikazani kod individualnih nosilaca genetskih varijanti u okviru prikaza slučaja.

Interiktalni FDG-PET mozga je sproveden u jutarnjim časovima na PET skener aparatu Nuklearne medicine Poliklinike Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, od strane iskusnog specijaliste nuklearne medicine. Pacijenti su instruisani da prethodnog dana nakon 18h ne konzumiraju hranu sa koncentrovanim šećerom.

Iktalni SPECT je sproveden od strane iskusnog neurologa specijalizovanog u oblasti epileptologije. Injekcija radiofarmaka je sprovedena po registrovanju prvih kliničkih i/ili elektroencefalografskih znakova napada. Tehnički uspešna injekcija je smatrana ona u kojoj je injekcija primenjena tokom prvih 10s od iktalnog početka. Potom je pacijent snimam pomoću gama kamere Nuklearne medicine Poliklinike Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, od strane iskusnog specijaliste nuklearne medicine. PSECT snimak je ponovljen u interiktalnim uslovima kod istog pacijenta potom je izvršena suptrakcija snimaka i superpozicija na MR snimak visoke rezolucije u okviru tzv. SISCOM (eng. *subtraction ictal spect co-registered to magnetic resonance imaging*).

Rezultati funkcionalnih metoda nuklearne medicine su analizirani od strane iskusnog specijaliste nuklearne medicine koji je edukovan u oblasti epileptologije i koji nije bio prethodno informisan o rezultatima drugih ispitivanja u cilju izbegavanja pristrasnosti pri evaluaciji snimaka.

## 3.3 Ugnježdena molekularno-genetička studija

### 3.3.1 Selekcija pacijenata za ugnježdenu genetsku studiju

Pacijenti sa kliničkom sumnjom na genetsku fokalnu epilepsiju su selektovani za sekvenciranje pet gena (*DEPDC5*, *LGII*, *SCN1A*, *GRIN2A* i *PCHD19*) najčešće uključenih u etiopatogenezu NSFE (Epi4K consortium and EPGP, 2017), kojima su pridružena i dva (*NPRL2* i

*NPRL3*) gena koja zajedno sa najčešće zastupljenim genom u NSFE (*DEPDC5*) kodiraju proteine GATOR1 kompleksa uključenog u mTOR molekularni put (Ricos et al., 2016).

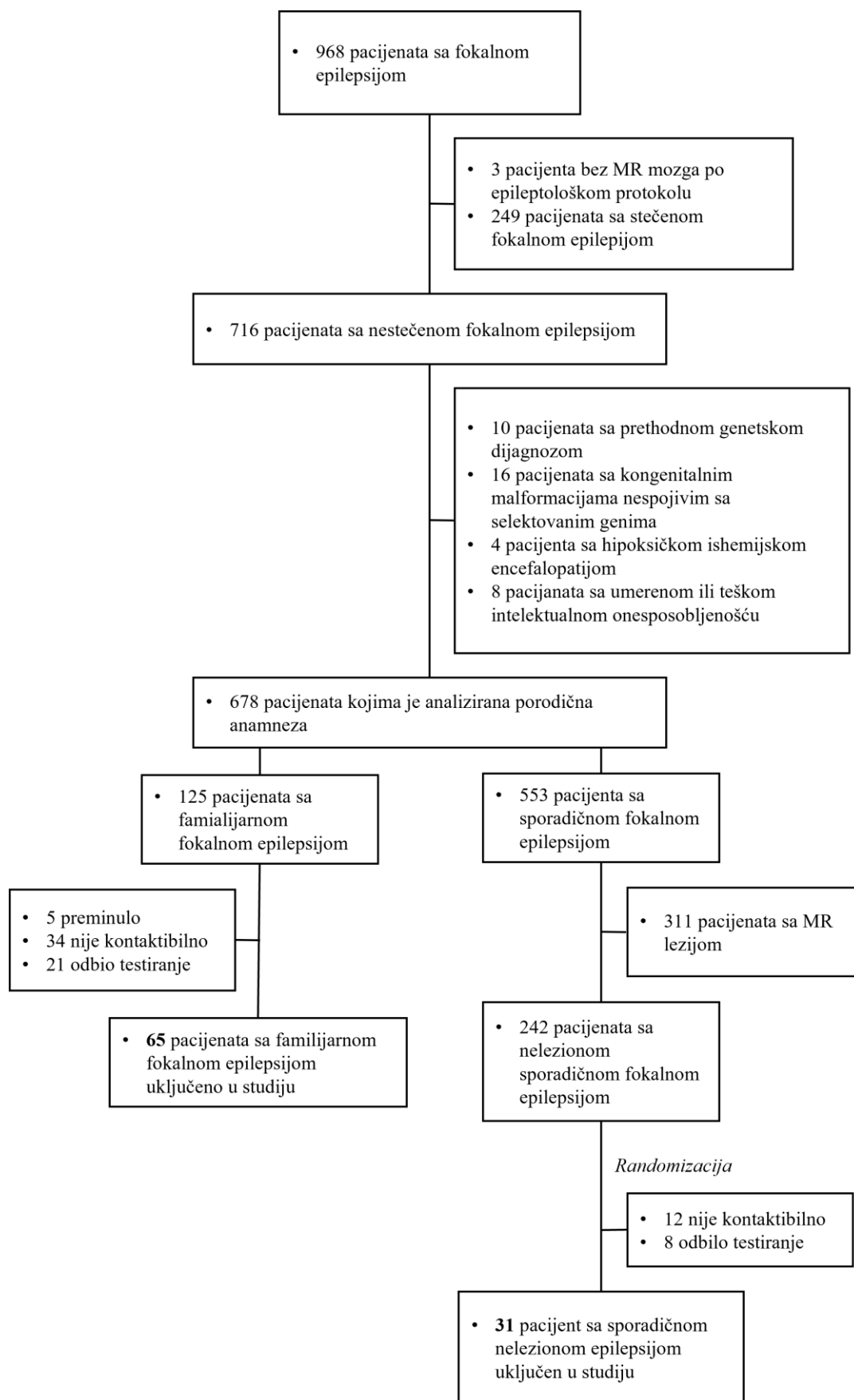
Selekcija pacijenata za testiranje je bila bazirana na visokoj kliničkoj sumnji na genetsku fokalnu epilepsiju, što je podrazumevalo obolele od NSFE koji imaju pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad ili febrilne napade ili obolele od NLFE čak i u odsustvu pozitivne porodične anamneze. Kako su prethodne studije pokazale povezanost varijanti u selektovanim genima i epilepsije udružene sa HS, FCD, PMG ili kortikalnom heterotopijom (Baldassari et al., 2019a, p. 201; Baulac et al., 2015; Colosimo et al., 2007; Sim et al., 2016; Weckhuysen et al., 2016), pacijenti sa familijarnom bolešću i ovim lezijama su bili uključeni u dalju analizu, dok su pacijenti sa drugim radiološki utvrđenim lezijama bili isključeni iz studije. S obzirom na to da su brojne studije pokazale odsustvo oboljenja kod srodnika kod blizu 50% nosilaca određenih varijanti (Baldassari et al., 2019a), pacijenti sa nelezionom nestečenom fokalnom epilepsijom su uključeni u studiju i u odsustvu porodične anamneze. Pacijenti sa početkom bolesti posle navršene 40. godine su bili isključeni iz studije, shodno prethodno ustanovljenom prediktivnom značaju porodične anamneze, starosti na početku bolesti i nelezionom MR za genetsku osnovu bolesti (Ottman et al., 1996b). Iz analize su isključeni i pacijenti sa umerenom ili teškom IO radi osiguravanja da pacijenti sa nedijagnostikovanom prethodnom epileptičkom encefalopatijom budu isključeni. Shodno tome su formulisani sledeći kriterijumi:

#### Kriterijumi za uključanje u studiju

1. Dijagnoza NSFE i pozitivna porodična anamneza na epilepsiju, epileptički napad ili febrilne napade i
  1. Uredna MR mozga ili
  2. Nalaz HS, FCD, PMG ili kortikalne heterotopije ili
2. Dijagnoza NSFE i negativna porodična anamneza i uredna MR mozga.

#### Kriterijumi za isključenje iz studije

1. SFE;
2. Nalaz kongenitalnih malformacija koje nisu prethodno povezane sa varijantama u selektovanim genima;
3. Hipoksičko-ishemijska encefalopatija
4. Početak bolesti posle navršene 40. godine
5. Umerena ili teška IO;
6. Prethodno postavljena genetska dijagnoza.



Slika 36 Algoritam za selekciju pacijenata za ugneždenu molekularno-genetičku studiju

Pacijenti su potom kontaktirani telefonskim putem. Oni koji nisu bili kontaktibilni i oni koji su odbili testiranje su isključeni iz dalje analize. Potom je selektovan reprezentativni uzorak

sporadične nelezionom NSFE. Konstruisana je numerička lista pacijenata u ovoj grupi. Potom je pomoću randomizatora dostupnog na internetu, konstruisan redosled kojim će pacijenti biti kontaktirani. Među njima, oni koji nisu bili kontaktabilni ili koji su odbili testiranje su isključeni iz dalje analize. U konačnu studiju je uključeno 96 pacijenata, 65 sa familijarnom NSFE i 31 sa sporadičnom nelezionom NSFE (Slika 36).

Pacijenti su prilikom posete za prikupljanje materijala potpisivali *Informisani pristanak za molekularno-genetičku analizu*. Anamnestički podaci, prikupljeni iz arhiviranih podataka, su dopunjeni primenom semistruktuisanog upitnika o porodičnoj, perinatalnoj i anamnezi o ranom psihomotornom razvoju, početku bolesti i njenom toku, predilekciji prema klasterima napada ili epileptičkom statusu, faktorima koji precipitiraju pojavu napada, predisponirajućim faktorima za nastanak epilepsije, upotrebi AEL kao i drugih formi lečenja i njegovom ishodu.

### 3.3.2 Molekularno-genetička dijagnostika

Za molekularno-genetičku analizu je korišćena periferna krv koja je uzorkovana od strane ispitivača kod selektovanih pacijenata po pozivu. Uzimano je 5-10ml krvi u epruvetu sa natrijum-citratom ili etilen-diaminom-tetraacetatom (EDTA). Uzorci su čuvani u zamrzivaču na temperaturi od  $-20^{\circ}\text{C}$

#### 3.3.2.1 Izolacija genomske DNK iz periferne krvi

DNK je izolovana metodom *isoljavanja* po Miller-u (Miller et al., 1988) kojom se dobija DNK visokog kvaliteta. Ona podrazumeva višestepeni proces uz primenu različitih puferских smeša:

1. Uzorak krvi se pomeša sa *puferom za lizu* (0,32 M SAHAROZA, 10 mM TRIS HCl pH 7,5, 1% TRITON x 100 i 5 mM  $\text{MgCl}_2$ ) u zapreminskom odnosu 1:1 i inkubira na  $4^{\circ}\text{C}$  tokom 15 do 20 minuta;
2. Uzorak se potom centrifugira na 2000 rpm tokom 15 minuta, nakon čega se supernatant odbaci, a talog se resuspenduje u 5-10 ml *fiziološkog pufera* (0,075 M NaCl i 0,025 M EDTA pH 8);
3. Uzorak se potom ponovo centrifugira na 2000 rpm tokom 15 minuta. Ispiranje u fiziološkom puferu se ponavlja nekoliko puta dok talog ne pobeli;
4. Potom nakon poslednjeg ispiranja se talog resuspenduje u 3 ml *pufera A* (10 mM TRIS HCl pH 7,5, 400 ml NaCl i 2 mM EDTA), 50  $\mu\text{l}$  10% proteinaze K i 200  $\mu\text{l}$  10% natrijum-dodecil-sulfata (eng. *sodium dodecyl sulfate*, SDS) i inkubira preko noći na  $37^{\circ}\text{C}$ ;
5. Narednog dana se smeši doda 1 ml 6 M NaCl, potom se dobro promućka i centrifugira na 3000 rpm tokom 15 minuta;
6. Supernatant se odlije u čistu epruvetu i centrifugira na 4000 rpm tokom 15 minuta;
7. Supernatant se odlije u čistu graduisanu epruvetu kojoj se doda izopropanol u zapremnskom odnosu 1:1;
8. Pažljivim izvrtanjem epruvete se izdvaja beličasti končić DNK;
9. DNK se pokupi staklenim štapićem i potapa u 70% rastvor etanola tokom 30 s;
10. DNK se osuši na vazduhu, a potom se rastvori u 300  $\mu\text{l}$  redestilovane vode.

#### 3.3.2.2 Određivanje koncentracije i kvaliteta genomske DNK

Koncentracija i kvalitet izolovane genomske DNK je vršena fluorometrijom na aparatu Qubit® 3.0 Fluorimeter uz upotrebu Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (*ThermoFisher Scientific*, SAD) kita.

Fluorometrija je zasnovana na detekciji fluorescencije spektra specifičnog za molekul od interesa (DNK, RNK ili protein). Fluorescentne boje emituju svetlost samo kada su vezane za molekul od interesa. Korišćenjem Qubit™ dsDNA HS Assay Kit kita meri se koncentracija isključivo dvolančane DNK i to u rasponu od 10 pg/μl do 100 ng/μl. Procedura se sprovodi u više koraka:

1. Prvo se pripremaju razblaženja svih uzoraka u redestilovanoj vodi u zapreminskoj razmeri 1:10;
2. Potom se priprema radni rastvor mešanjem 199 μl Qubit™ dsDNA HS pufera i 1 μl fluorescentne boje (Qubit™ dsDNA HS Reagent) za svaki mereni uzorak ili standard;
3. U zasebne Qubit Assay tubice se potom sipa po 1 μl DNK rastvora čiju koncentraciju određujemo. U dve dodatne tubice se sipa po 10 μl Qubit™ dsDNA HS Standarda #1, odnosno Standarda #2;
4. Potom se u svaku tubicu doda 199 μl, odnosno 190 μl radnog rastvora, da bi ukupna zapremina u svakoj tubici iznosila 200 μl;
5. Smeše se vorteksuju i inkubiraju tokom 2 minuta na sobnoj temperaturi;
6. U poslednjem koraku se po podešavanju Qubit fluorometar na merenje koncentracije dvolančane DNK korišćenjem dsDNA HS Assay kita očitavaju koncentracije standarda #1 i #2, a potom i DNK uzoraka.

### 3.3.2.3 Sekvenciranje nove generacije panelom kreiranim po porudžbini

Primenjeno je sekvenciranje nove generacije, molekularno-genetička metoda koja omogućava istovremeno sekvenciranje velikog broja DNK fragmenata tzv. masivno paralelno sekvenciranje u kratkom vremenskom periodu. U našoj studiji NGS je sproveden upotrebom posebno kreiranog panela po porudžbini, AmpliSeq Custom DNA Panel (*Illumina*, SAD), koji sadrži sve kodirajuće regione sa graničnim intronskim sekvencama 7 selektovanih gena (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A* i *PCDH19*). Ima ukupno 222 amplikona (odnosno 112/110 amplikona po pulu) i dva pula prajmera (AmpliSeq Custom DNA Panel Pool 1 i Pool2), sa pokrivenošću >99% na dubini čitanja 100x, što predstavlja sekvenciranje velike dubine. AmpliSeq Custom DNA Panel je kreiran pomoću *Illumina DesignStudio™* softvera za dizajniranje genskih panela.

Analizom ovog panela omogućena je detekcija SNV, kao i malih insercija, duplikacija i delecija u ispitivanoj DNK.

Sprovođenje ove metode obuhvatalo je tri koraka:

1. Pripremu uzoraka i formiranje DNK biblioteke
2. Sekvenciranje pomoću NGS platforme MiSeq (*Illumina*, SAD)
3. Analiza i interpretacija dobijenih rezultata

#### 3.3.2.3.1 Priprema uzoraka i formiranje DNK biblioteke

Priprema DNK biblioteke podrazumeva višestepeni proces za koji je korišćen AmpliSeq Library PLUS (*Illumina*, SAD) kit po uputstvu proizvođača ("Illumina Support Center," n.d.).

Kao prvi korak u procesu sprovedena je priprema DNK uzoraka normalizacijom na koncentraciju od 20 ng/μl u finalnoj zapremini od 5 μl Low TE.

Potom se formira DNK biblioteka fragmenata za grupe od po dva uzorka. U prvom koraku se vrši amplifikacija ciljanih regiona DNK uzorka pomoću lančane reakcije polimerizacije (eng. *polymerase chain reaction*, PCR), pri čemu se koriste pulovi prajmera (AmpliSeq Custom DNA Panel Pool1 i Pool2) da bi se izdvojile sekvence od interesa. Nakon amplifikacije, Pool1 i Pool2 se sjedinuju za svaki uzorak.

Na dobijene fragmente se u PCR reakciji dalje dodaju sekvence indeksa (indeksi 1 (i7) i 2 (i5)) na oba kraja fragmenata. Indeksi su jedinstveni za svaki uzorak. Nakon toga, biblioteka se prečišćava i ponovo amplifikuje čime se vrši njeno obogaćivanje.

Za validaciju, odnosno merenje koncentracije dobijene finalne biblioteke za svaki uzorak korišćen je Qubit® 3.0 Fluorimeter i Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (*ThermoFisher Scientific*, SAD), kao što je već opisano (3.3.2.2). Nakon što se izmeri koncentracije za svaki uzorak pojedinačno, oni se razblaže na 2 nM. Potom se uzorci spajaju u jedinstveni pul tako što se sjedinjuje po 10 µl svake 2 nM biblioteke.

### 3.3.2.3.1.1 Određivanje prosečne dužine fragmenta

Radi preciznog određivanja koncentracija finalne biblioteke pored merenja koncentracije fluorometrijskom metodom, neophodno je odrediti i prosečnu dužinu fragmenata biblioteke, što je vršeno uz pomoć Agilent DNA High Sensitivity Assay kita na aparatu Bioanalyzer 2100 (*Agilent Technologies*, SAD). Pri radu se koristi High Sensitivity DNA čip (*Agilent Technologies*, SAD) od ukupno 16 bunarića (11 na koje se nanose uzorci, jedan na koji se nanosi marker za dužinu fragmenata i četiri na koje se nanosi samo smeša gela i boje), a rezultati se obrađuju u softveru 2100 Expert v2.8 (*Agilent Technologies*, SAD). Očekivana distribucija fragmenata DNK je u opsegu veličine od ~300 bp do ~1000 bp. Procedura se sastoji od nekoliko koraka:

1. Najpre se na čip model nanese 350 µl redestilovane vode za ispiranje kapilara na aparatu;
2. Potom se smeša 15 µl boje i 300 µl gela vorteksuje na 6000 rpm tokom 10 minuta;
3. Potom se čip postavi u nosač za koji je zakačen špric;
4. Nanese 9 µl smeše boje i gela u bunarić označen simbolom „G“, nosač čipa se zaklopi i špric spusti do sive zakočnice na nosaču. To će poslužiti kao potisak da se smeša ravnomerno rasporedi u čipu;
5. Nakon toga, se otvori nosač čipa i nalije se 9 µl smeše boje i gela u ostala tri bunarića poslednjeg reda čipa obeleženih sa „G“;
6. Potom se nanosi 5 µl High Sensitivity DNA markera u preostalih 12 bunarića, a onda i 1 µl High Sensitivity DNA ledera u bunarić obeležen simbolom ledera;
7. Najzad, nanose se uzorci u zapremini od 1µl u bunariće za uzorke i tako pripremljeni čip se vorteksuje 1 minut na 2000 rpm;
8. Za to vreme se čip model izvadi iz aparata da bi se kapilare osušile na vazduhu;
9. Na kompjuteru se pokreće softver 2100 Expert, i bira esej HS DNA assay i upisujemo redom uzorke kako smo ih nanosili na čip;
10. Na kraju se čip sa uzorcima postavlja u aparat i pokreće esej.

Kada se dobiju podaci o koncentraciji biblioteke u ng/µl i prosečnoj dužini fragmenata u baznim parovima pristupa se računanju finalne koncentracije biblioteke u nanomolima, pri čemu se koristi sledeća formula:

$$\left( \frac{\text{koncentracija biblioteke } \left[ \frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \right]}{660 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \text{prosečna dužina biblioteke}} \right) \times 10^6 = \text{koncentracija biblioteke } [\text{nM}]$$

Potom se biblioteka razblaži u Resuspension puferu (Resuspension Buffer, Reagent Kit V3, *Illumina*, SAD) do finalne koncentracije od 8 pM u volumenu od 600 µl. U postupku razblaživanja DNK fragmenti se denaturišu u HiDi™ formamidu. Ovako pripremljena biblioteka se zatim nanosi na kertridž za sekvenciranje (*Illumina*, SAD).



### 3.3.2.3.2 Reakcija sekvenciranja nove generacije

Sekvenciranje metodom NGS na Illumina platformi predstavlja sekvenciranje sintezom (eng. *Sequencing By Synthesis*) koje je zasnovano na upotrebi fluorescentno obeleženih nukleotida. Analiza je vršena u aparatu Illumina MiSeq (*Illumina, SAD*), a fragmenti su sekvencirani u 250 ciklusa sa oba kraja (eng. *paired-end sequencing*).

Reakcija sekvenciranja se odvija na površini tzv. *protočne ćelije* (engl. *flow cell*) na kojoj se nalaze kovalentno vezani oligonukleotidi komplementarni sekvencama adaptera koji su tokom formiranja DNK biblioteke dodati na krajeve svih DNK fragmenata. Po nanošenju DNK biblioteka na protočnu ćeliju, dolazi do komplementarnog sparivanja oligonukleotida, čime se DNK fragmenti vezuju za površinu protočne ćelije. Potom se vrši klonalna simplifikacija fragmenata molekula DNK u modifikovanom izotermalnom PCR-u koji se naziva *bridge-PCR* (Adessi et al., 2000; Fedurco et al., 2006) tokom koje se molekuli DNK savijaju i formiraju most sa susednim oligonukleotidom na površini protočne ćelije. Ovim procesom se formira više od 50 miliona pojedinačnih klastera od više od hiljadu kopija klonalno amplifikovanih DNK molekula na površini protočne ćelije. Potom se klasteri denaturišu radi obezbeđivanja jednolančane DNK matrice za koju će se vezati prajmer za sekvenciranje.

Tokom svakog ciklusa klonalno amplifikovani klasteri se izlažu DNK polimerazi i mešavini od četiri nukleotida od kojih je svaki obeležen jedinstvenom fluorescentnom bojom. Nukleotidi su modifikovani na 3'-kraju grupom koja onemogućava nastavak procesa sinteze, tzv. *reverzibilni terminatori*. Time se obezbeđuje ugradnja samo jednog nukleotida u svakom ciklusu sekvenciranja. Na kraju svakog ciklusa očitava se fluorescentni signal za svaki nukleotid, a zatim se sa njega odstranjuje fluorescentna boja i grupa za terminaciju. Na taj način rastući lanac se regeneriše za naredni ciklus dodavanja nukleotida

### 3.3.2.3.3 Analiza rezultata sekvenciranja

Analiza i interpretacija rezultata sekvenciranja je sprovedena prema preporukama Broad Instituta, SAD (DePristo et al., 2011). Ovaj proces je podrazumevao tri koraka:

1. Predprocesiranje podataka, koje podrazumeva konverziju sirovih podataka dobijenih sekvenciranjem u datoteke pogodne za analizu
2. Detekcija varijanti i filtriranje artefakata sekvenciranja
3. Dodatni koraci za filtriranje i ocenjivanje biološkog i kliničkog značaja varijanti

#### 3.3.2.3.3.1 Predprocesiranje podataka

Sekvenca očitana pomoću sekvenatora (tzv. *read files*) je alajnovana sa hg38 referentnim genomom pomoću Burrows-Wheeler softvera za alajnovanje (eng. *Burrows-Wheeler Alignment, BWA*) čime je dobijena mapa alajnmenta sekvence (eng. *Sequence Alignment/Map, SAM*) (Li and Durbin, 2009). Potom je ona konvertovana u binarnu mapu alajnmenta (eng. *binary alignment/map, BAM*) na koju je primenjen *Genome Analysis Toolkit* (GATK) algoritam dobre prakse (eng. *GATK-best practice pipeline*), u koji je uključena i rekaliibracija baznog skora kvaliteta, realajnovanje indela i obeležavanje duplikata (McKenna et al., 2010).

#### 3.3.2.3.3.2 Detekcija varijanti

Detekcija varijanti je sprovedena pomoću softvera za detekciju SNV i indela, HaplotypeCaller-a ("HaplotypeCaller," 2023) kojim je kohorta zajednički označena i genotipizirana. Parametri tvrdog filtriranja i rekaliibracija skora kvaliteta varijanti su takođe sprovedeni po GATK preporukama (Auwera and O'Connor, 2020; DePristo et al., 2011). Anotacija uzoraka je obavljena

pomoću softvera za analizu, anotaciju i određivanje prioriteta, *Ensamble Variant Effect Predictor* (VEP) (McLaren et al., 2016) kao i *GENCODE Human Release 35* (Frankish et al., 2019).

### 3.3.2.3.3.3 Dodatno filtriranje varijanti

Da bi odredili varijante od interesa (VOI), na dobijene varijante su potom primenjeni filteri kvaliteta bazirani na GATK preporukama (“Hard-filtering germline short variants,” n.d.), što podrazumeva varijante koje su prošle bilo koje od sledećih ocena kvaliteta:

1. Rezultat FisherStrand testa <40;
2. StrandOddsRatio (SOR) <3;
3. RMSMappingQuality (MQ) >40
4. MappingQualityRankSumTest (MQRankSum) između -5 i 5;
5. QualByDepth (QD) >2;
6. Rezultat ReadPosRankSumTest (ReadPosRankSum) >-4;
7. Dubina čitanja >3x.

Varijante su potom selektovane po procenjenoj patogenosti prema učestalosti alela, efekta na proteinsku i biološku funkciju. To podrazumeva varijante koje su lokalizovane na biološki relevantnim transkriptima, tzv, MANE (eng. *Matched Annotation from NCBI and EMBL-EBI*) -select transkriptima (Morales et al., 2022) (Tabela 16).

Tabela 16 MANE-select transkripti za gene u studiji

DEPDC5	NM_001242896.3
NPRL2	NM_006545.5
NPRL3	NM_001077350.3
SCN1A	NM_001165963.4
LGI1	NM_005097.4
GRIN2A	NM_001134407.3
PCDH19	NM_001184880.2

Varijante koje su procenjene kao štetne su

1. *Null* varijante koje dovode do potpunog gubitka funkcije genskog produkta. Pod njima se podrazumevaju *frameshift* i *nonsense* varijante, izuzev onih lociranih u terminalnim regionima poslednjeg egzona čiji biološki efekat nije moguće predvideti. U ovu grupu su svrstane i SNV koje su po *in silico* predikciji ocenjene kao splajsogene, što znači da dovode do komplikacija prilikom iskranja introna (Tabela 17)
2. *Missense* SNV varijante koje su prema rezultatima *in silico* predikcije ocenjene kao štetne (Tabela 17)

Tabela 17 Softver za *in silico* predikciju patogenosti SNV korišćen u našoj studiji

	<b><i>In silico</i> algoritam</b>	<b>Patološki kriterijum</b>	<b>Referenca</b>
Missense	REVEL	>0,5	Ioannidis et al., 2016
	CADD	>30	Rentzsch et al., 2019
	MetaRNN	D	C. Li et al., 2022
Splice-site SNV	SpliceAI	>0,5	Jaganathan et al., 2019

SNV – varijanta pojedinačnog nukleotida (eng. *single nucleotide variant*), REVEL – eng. *Rare Exome Variant Ensemble Learner*, CADD – eng. *Combined Annotation Dependent Depletion*

Varijante registrovane u ClinVar bazi (Landrum et al., 2018) kao patogene, verovatno patogene, varijante nepoznatog značaja (eng. *variant of unknown significance*, VUS) ili faktori rizika su takođe uključene u dalju analizu. Varijante koje su procenjene kao štetne, a koje su dovodile do nekonzervativne aminokiselinske supstitucije, odnosno promene iz jedne klase aminokiselina u drugu, koje su locirane na poznatim proteinskim domenima su takođe selektovane kao VOI.

#### 3.3.2.3.3.4 Klasifikacija varijanti od interesa

Klinički značaj VOI je definisan prema preporukama Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku (eng. *American College of Medical Genetics and Genomics*, ACMG) i Udruženja za molekularnu patologiju (eng. *Association for Molecular Pathology*, AMP) (ACMG-AMP) (Richards et al., 2015). One podrazumevaju klasifikaciju od 5 nivoa:

1. Patogene varijante;
2. Verovatno patogene varijante;
3. Varijante nepoznatog značaja (VUS);
4. Verovatno benigne varijante;
5. Benigne varijante.

Samo prve dve kategorije se smatraju dijagnostički značajnim. Klasifikacija u jednu od navedenih kategorija je bazirana na kombinaciji različitih argumenata u prilog patogenosti (Tabela 18) i u prilog benignosti (Tabela 19) varijante. Pravila za kombinovanje kriterijuma su navedena u Tabela 20

Tabela 18 Kriterijumi za klasifikaciju patogenih varijanti, adaptirano iz Richards et al., 2015

Kategorija dokaza	Kriterijumi patogenosti varijante	
Vrlo snažan	PVS1	<i>Null</i> varijanta
Snažan	PS1	Ista aminokiselinska supstitucija kao već ustanovljena patogena varijanta
	PS2	<i>De novo</i> varijanta sa potvrđenim majčinstvom i očinstvom kod pacijenta sa negativnom porodičnom anamnezom
	PS3	Dobro koncipirane funkcionalne studije koje podržavaju štetni efekat na gen ili genski produkt
	PS4	Prevalencija kod obolelih je značajno veća u odnosu na kontrolne subjekte
Umereno snažan	PM1	Locirana u mutacionoj <i>vrućoj tački</i> i/ili ključnom funkcionalnom domenu u kome nema benignih varijanti
	PM2	Odsutna u populacionim bazama ili prisutna u vrlo niskom MAF
	PM3	Za recesivna oboljenja detekcija varijante u <i>trans</i> poziciji u odnosu na drugu patogenu varijantu
	PM4	Promene dužine proteina usled insercija/delecija bez promene okvira čitanja (eng. <i>in frame</i> ) u regionu bez ponovaka, ili varijante sa gubitkom stopa
	PM5	Nova <i>missense</i> promena u aminokiselinskom ostatku gde je već opisana <i>missense</i> patogena varijanta
	PM6	<i>De novo</i> varijanta bez dokazanog majčinstva i očinstva
Podržavajući	PP1	Varijanta koja se segreguje sa bolešću kod više članova porodice u genu koji je već povezan sa bolešću
	PP2	<i>Missense</i> varijanta u genu sa niskom stopom benignih <i>missense</i> varijanti i u kome su <i>missense</i> varijante čest mehanizam bolesti
	PP3	Višestruki <i>in silico</i> prediktori bazirani na različitim aspektima patogenosti predviđaju štetnost varijante po funkcionalnost gena ili genskog produkta
	PP4	Fenotip visokospecifičan za monogensku bolest povezanu sa datim genom
	PP5	Pouzdan izvor prijavljuje varijantu kao patogenu, ali dokazi nisu dostupni za nezavisnu evaluaciju

MAF – učestalost retkog alela, eng. *minor allele frequency*

Tabela 19 Kriterijumi za klasifikaciju benignih varijanti, adaptirano iz Richards et al., 2015

Kategorija dokaza	Kriterijumi benignosti varijante	
Samostalni	BA1	MAF >5% u GnomAD
Snažan	BS1	MAF veća od očekivane za bolest
	BS2	Opservirana kod zdravih osoba u homozigotnoj (za recesivne), heterozigotnoj (za dominantne) i hemizigotnoj (za X vezane bolesti)
	BS3	Jasno ustanovljeno odsustvo funkcionalnog efekta u funkcionalnim studijama
	BS4	Odsustvo kosegregacije sa bolešću kod članovima porodice
Podržavajući	BP1	Missense varijante u genima u kojima je skraćenje proteinskog produkta primarni mehanizam patogenosti
	BP2	Opservirana kao <i>trans</i> sa patogenom varijantom za gen sa potpunom penetrantnošću ili opserviran kao <i>cis</i> u bilo kom obliku nasleđa kod zdravih osoba
	BP3	Delecije i insercije bez izmene okvira čitanja u regionu ponovaka bez jasno opisane funkcije
	BP4	Višestruki <i>in silico</i> prediktori ukazuju na to da nema efekta na funkciju gena ili genskog produkta
	BP5	Varijanta nađena kod pacijenta sa drugom genetskom dijagnozom
	BP6	Prijavljena kao benigna od strane pouzdanog izvora, ali dokazi nisu dostupni za nezavisnu evaluaciju
	BP7	Sinonimna varijanta bez splajsogenog efekta

MAF – učestalost retkog alela, eng. *minor allele frequency*

Tabela 20 Klasifikacija zasnovana na kombinaciji kriterijuma Richards et al., 2015

<b>Patogene varijante</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Vrlo snažan (PVS1) i               <ol style="list-style-type: none"> <li>a. <math>\geq 1</math> snažan (PS1-PS4) ili</li> <li>b. <math>\geq 2</math> umereno snažna (PM1-PM6) ili</li> <li>c. 1 umereno snažan (PM1-PM6) i 1 podržavajući (PP1-PP5) ili</li> <li>d. <math>\geq 2</math> podržavajuća (PP1-PP5)</li> </ol> </li> <li>2. <math>\geq 2</math> snažna (PS1-PS4) ili</li> <li>3. 1 snažan (PS1-PS4) i               <ol style="list-style-type: none"> <li>a. <math>\geq 3</math> umerena (PM1-PM6) ili</li> <li>b. 2 umerena (PM1-PM6) i <math>\geq 2</math> podržavajuća (PP1-PP5) ili</li> <li>c. 1 umereni (PM1-PM6) i <math>\geq 4</math> podržavajuća</li> </ol> </li> </ol>
<b>Verovatno patogene varijante</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Vrlo snažan (PVS1) i 1 umereno snažan (PM1-PM6) ili</li> <li>2. 1 snažan (PS1-PS4) i 1-2 umereno snažna (PM1-PM6) ili</li> <li>3. 1 snažan (PS1-PS4) i <math>\geq 2</math> podržavajuća (PP1-PP5) ili</li> <li>4. <math>\geq 3</math> umerena (PM1-PM6) ili</li> <li>5. 2 umerena (PM1-PM6) i <math>\geq 2</math> podržavajuća (PP1-PP5) ili</li> <li>6. 1 umereni (PM1-PM6) i <math>\geq 4</math> podržavajuća</li> </ol>
<b>Benigne varijante</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 1 samostojeći (BA1) ili</li> <li>2. <math>\geq 2</math> Snažna (BS1-BS4)</li> </ol>
<b>Verovatno benigne varijante</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 1 Snažan (BS1-BS4) i 1 podržavajući (BP1-BP7) ili</li> <li>2. <math>\geq 1</math> podržavajuća (BP1-BP7)</li> </ol>
<b>Varijante nepoznatog značaja</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Gore navedeni kriterijumi nisu zadovoljeni</li> <li>2. Zadovoljeni kriterijumi i za benigne/verovatno benigne i patogene/verovatno patogene</li> </ol>

### 3.4 Etički aspekti istraživanja

Naša studija je dizajnirana kao retrospektivna studija preseka sa ugnježdenom molekularno-genetičkom studijom. U njoj su retrospektivno analizirani arhivirani rezultati dijagnostičke obrade, koja je obavljena u cilju diferencijalne dijagnoze prema drugim paroksizmalnim događajima, dijagnoze epileptičkog sindroma kao i prehirurške evaluacije pacijenata sa fokalnom farmakorezistentnom epilepsijom. Svim pacijentima je pre započinjanja ispitivanja ponuđeno da potpišu *Informisani pristanak* u kome je jasno istaknuto da će prikupljeni rezultati biti arhivirani, da će se na sačuvanim snimcima videti lice pacijenta, što ostavlja mogućnost naknadnog prepoznavanja identiteta i da se dobijeni rezultati mogu koristiti jedino u naučno-istraživačke i obrazovne svrhe, kao i da mogu biti kontaktirani naknadno radi sprovođenja dopunske dijagnostike u kliničke ili istraživačke svrhe. Posebno je istaknuto da nepristajanje na to da arhivirani podaci naknadno budu analizirani i prikazivani, kao i na to da budu naknadno kontaktirani neće imati nikakve posledice po dalje ispitivanje i lečenje.

Pacijenti uključeni u ugnježdenu molekularnu genetsku studiju su pri poseti za prikupljanje materijala potpisivali *Informisani pristanak za molekularno-genetičko testiranje*. Pacijenti sa dijagnostički značajnim nalazom testiranja su bili informisani o njegovom nalazu, dok je pacijentima sa dokazanim benignim varijantama ili varijantama nepoznatog značaja saopšteno da nisu nađeni dijagnostički značajni nalazi, u skladu sa aktuelnim preporukama (Richards et al., 2015).

Istraživači su obavezani na apsolutnu zaštitu identiteta ispitanika, kao i na čuvanje dokumentacije o ispitanicima u periodu od najmanje 10 godina od sprovedenog istraživanja, u skladu sa odlukom Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, koji je dao saglasnost za sprovođenje ovog istraživanja.

### 3.5 Statistička analiza

Statističke analize su sprovedene upotrebom IBM SPSS V26.0 softvera (*SPSS Inc*, Čikago, Illinois, SAD).

U analizi podataka su korišćene metode deskriptivne statistike i to apsolutni i relativni brojevi, kao i mere centralne tendencije i disperzije.

Za određivanje raspodele varijabli korišćen je Kolmogor-Smirnov test. Za statističku analizu kontinuiranih varijabli normalne raspodele korišćen je Studentov t-test ili ANOVA sa *post hoc* analizom (Bonferroni-eva korekcija), u zavisnosti od broja grupa pacijenata, dok su za kontinuirane varijable bez normalne raspodele korišćeni Mann-Whitney-ev test pri poređenju dve i Kruskal-Wallisov test analize varijanse pri poređenju više grupa pacijenata.

U analitičkoj evaluaciji nominalnih i ordinalnih varijabli korišćen je  $\chi^2$  test, Fišerov test tačne verovatnoće u zavisnosti od dimenzija tablica kontigencije i broja očekivanih slučajeva u tablici.

Razlike u ispitivanim varijablama su smatrane statistički značajnim ukoliko je verovatnoća za slučajnu razliku između empirijskih i teorijskih vrednosti manja od 5% ( $p < 0,05$ ), a statistički visokoznačajnim ukoliko je verovatnoća za slučajnu razliku između empirijskih i teorijskih vrednosti manja od 1% ( $p < 0,01$ ).

## 4 Rezultati

### 4.1 Demografske, kliničke i radiološke karakteristike ispitivane grupe pacijenata

#### 4.1.1 Populacija pacijenti Centra za epilepsije i njihovi epileptički sindromi

U Centru za epilepsije je u periodu od 01.04.2008. do 01.11.2019. godine ispitivano 1354 pacijenata. Među njima 28 pacijenata je bilo nedovoljno ispitano za donošenje konačne dijagnoze, dva pacijenta su imala simptomatske napade, a dijagnoza drugih paroksizmalnih događaja bez dijagnoze epilepsije je postavljena kod 216 pacijenata (108 pacijenata sa PNEN, 32 pacijenta sa sinkopom, i 76 pacijenata sa drugim paroksizmalnim događajima). Kod 1108 (81,3%) pacijenata je postavljena dijagnoza epilepsije (Slika 37, Tabela 21).



Slika 37 Distribucija tipova epilepsije među pacijentima Centra za epilepsije u periodu od 01.04.2008. do 01.11.2019. (N = 1108)

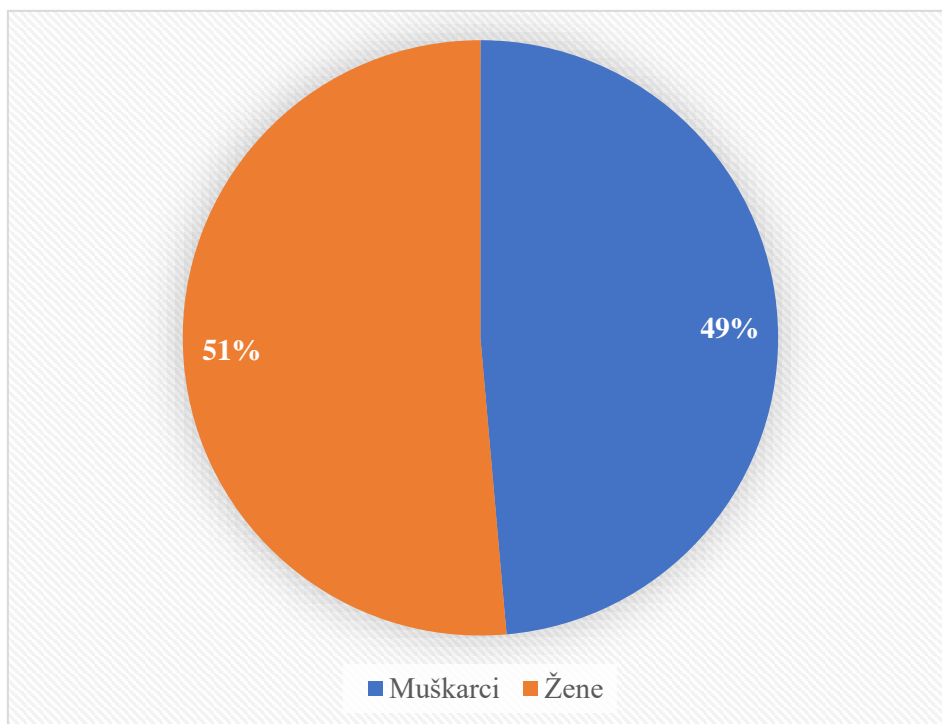
Tabela 21 Distribucija tipova epilepsije među pacijentima Centra za epilepsije u periodu od 01.04.2008. do 01.11.2019.

Epileptički sindrom	N	%
Fokalna epilepsija	968	87.4
Generalizovana epilepsija	76	6.9
Kombinovana generalizovana i fokalna epilepsija	26	2.3
Neklasifikovana epilepsija	38	3.4
<b>Σ</b>	<b>1108</b>	<b>100</b>

#### 4.1.2 Demografske karakteristike ispitivane grupe pacijenata sa fokalnom epilepsijom

U našu studiju je uključeno 965 (469 [48,6%] muškaraca i 496 [51,4%] žena, Slika 38) pacijenata sa dijagnozom fokalne epilepsije, čija je medijana starosti bila 32 (interval 5-84) godine

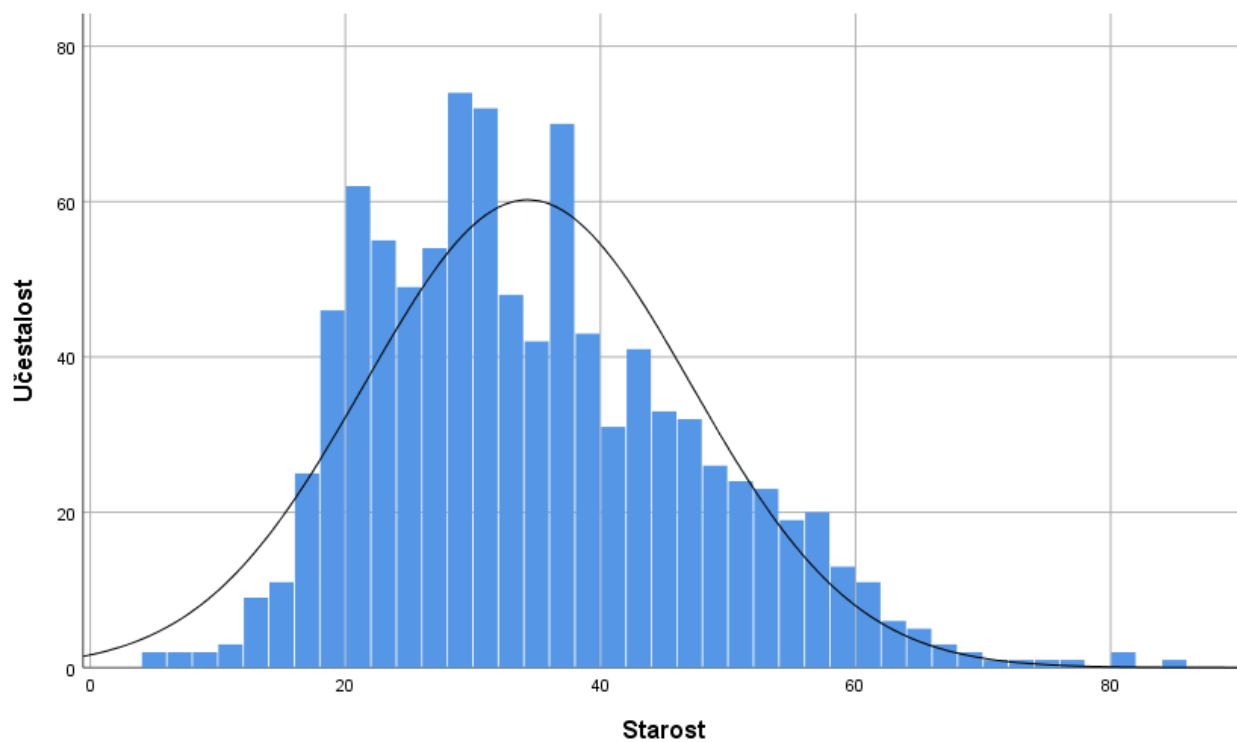
(Slika 39), a medijana starosti na početku bolesti 14 (interval 0-78) godina (Slika 40, Tabela 22). Medijana trajanja bolesti je iznosila 16 (interval 0-61).



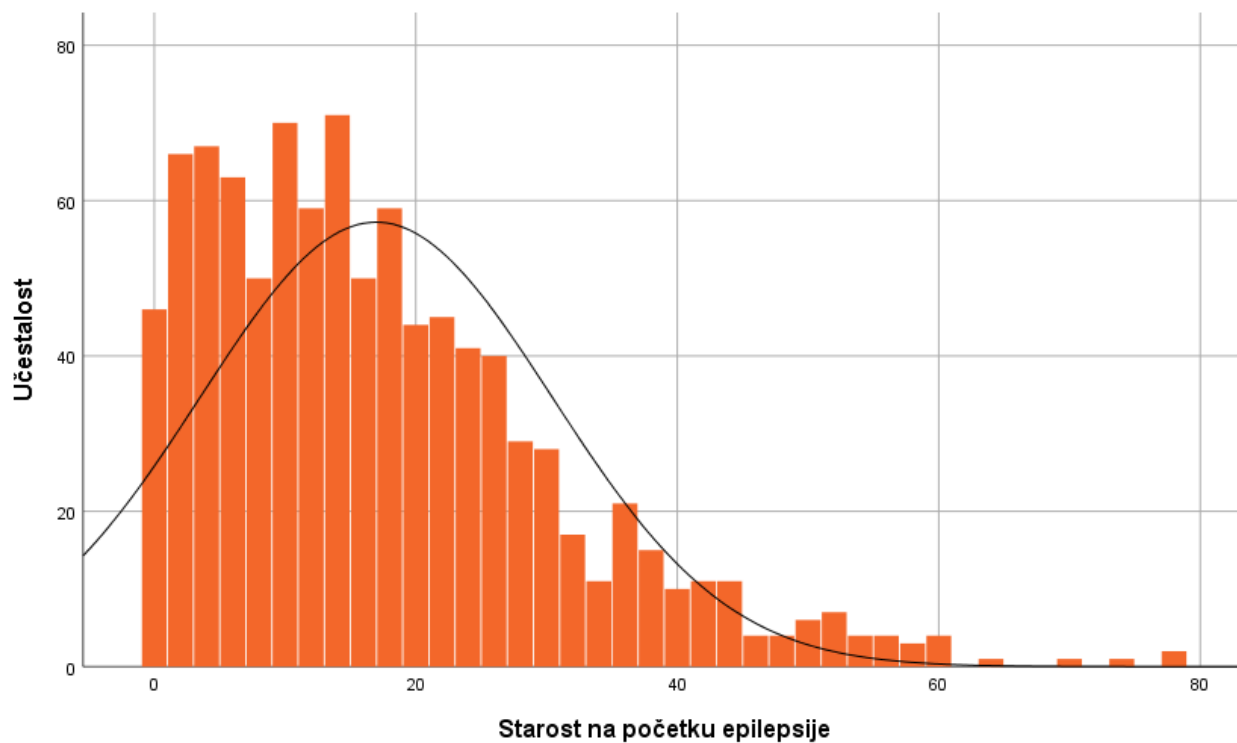
Slika 38 Polna distribucija ispitivane grupe pacijenata (N = 965)

Tabela 22 Starost na početku epilepsije u petogodišnjim intervalima u ispitivanoj grupi pacijenata

Početak epilepsije [godine]	N	%	Σ%
0-4	179	18,5	18,5
5-9	144	14,9	33,5
10-14	169	17,5	51,0
15-19	138	14,3	65,3
20-24	101	10,5	75,8
25-29	80	8,3	84,0
30-34	45	4,7	88,7
35-39	43	4,5	93,2
40-44	25	2,6	95,8
45-49	12	1,2	97,0
50-54	13	1,3	98,3
55-59	8	0,8	99,2
60-64	4	0,4	99,6
65-69	0	0,0	99,6
70-74	2	0,2	99,8
75-79	2	0,2	100,0
Σ	965	100,0	



Slika 39 Distribucija godina starosti u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom (N = 965)



Slika 40 Distribucija starosti pacijenata na početku epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom (N = 965)

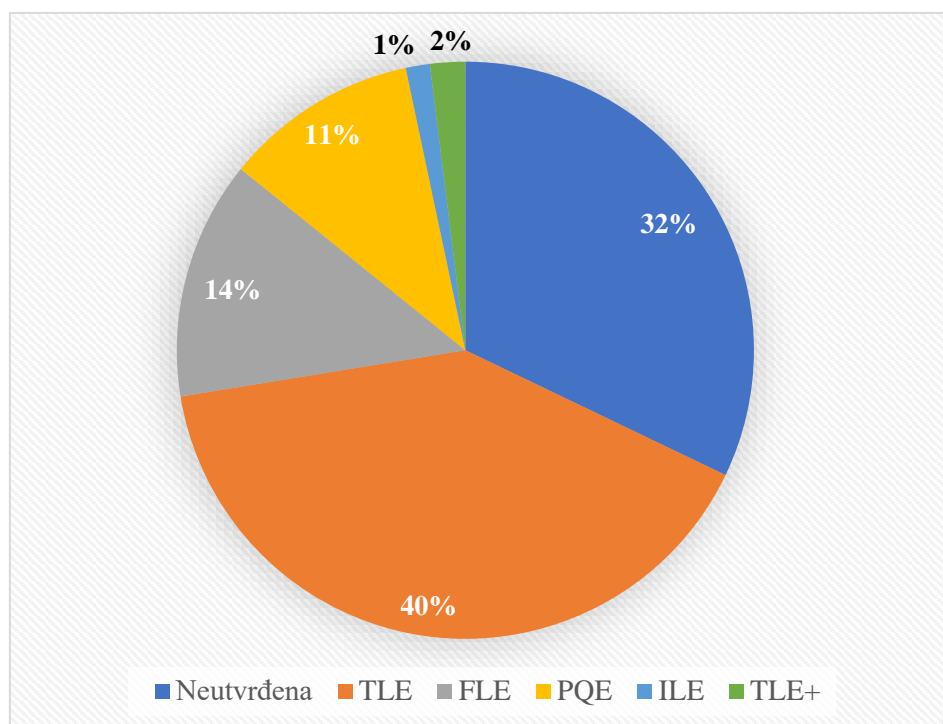


#### 4.1.3 Lobarni sindromi u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom

Lobarni sindrom nije bilo moguće determinisati kod 310 (32,1%) pacijenata. Među preostalim pacijentima sa fokalnom epilepsijom, najčešća lobarna dijagnoza je bila TLE (Tabela 23, Slika 41).

Tabela 23 Distribucija lobarnih sindroma u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom

Lobarna dijagnoza	N	%
Neutvrđena	310	32,1
TLE	389	40,3
FLE	129	13,4
PQE	105	10,9
ILE	13	1,3
TLE+	19	2,0
<b>Σ</b>	<b>965</b>	<b>100,0</b>



Slika 41 Distribucija lobarnih sindroma u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom (N = 965)

#### 4.1.4 Radiološki definisana strukturna etiologije fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata

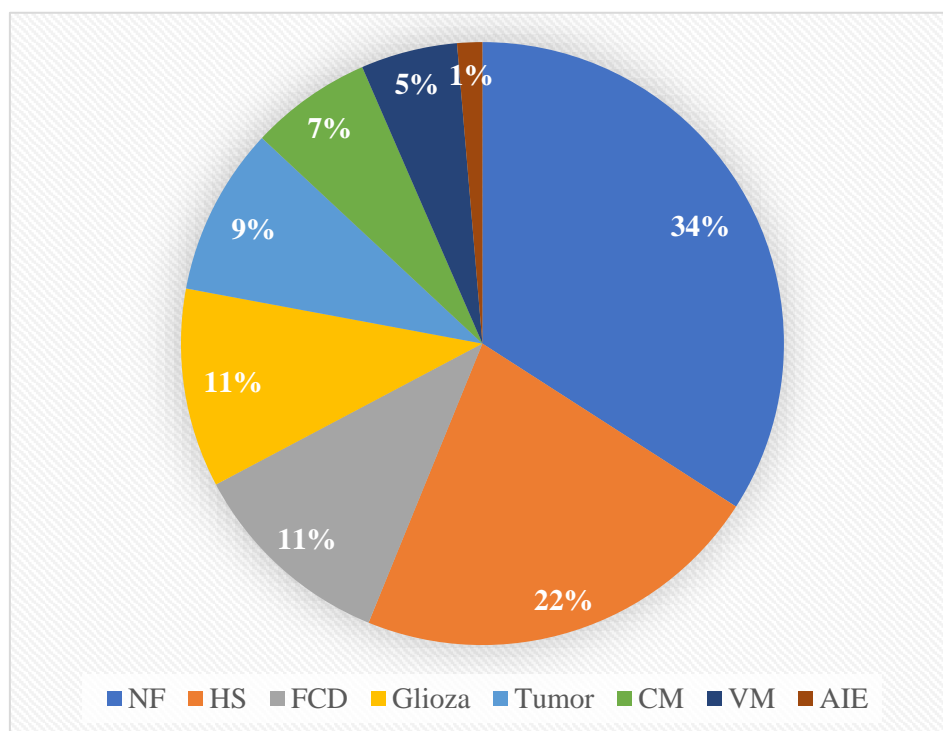
Prinos MR u definisanju etiološke dijagnoze je bio 66,0%. Najčešće detektovana lezija je bila HS, potom FCD, gliozna i tumori (Tabela 24, Slika 42).

Tabela 24 Distribucija etiologije kod pacijenata sa fokalnom epilepsijom u ispitivanoj grupi pacijenata

		N	%
Neleziona		329	34,1
HS		213	22,1
FCD		107	11,1
Gliozna		103	10,7
Tumor	LEAT	54	5,6
	Gliom	17	1,7
	Meningeom	5	0,5
	Meningealna karcinomatosa	1	0,1

	Nedefinisan tumor	10	1,0	
	Ukupno tumora	87	9,0	
<b>KM</b>	Hetereotopija sive mase	26	2,7	
	PMG	9	0,9	
	Hamartom hipotalamusa	6	0,6	
	TSC	6	0,6	
	Kongenitalni hidrocefalus	4	0,4	
	Cista horoidne fisure	3	0,3	
	Kolpocefalija	2	0,2	
	Dandy-Walker sindrom	1	0,1	
	Enkefalokela	1	0,1	
	Nedefinirana KM	5	0,5	
	Ukupno KM	63	6,5	
	<b>VM</b>		50	5,2
	<b>Autoimuna</b>		13	1,3
<b>Σ</b>		<b>965</b>	<b>100</b>	

HS – hipokampalna skleroza; FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*); LEAT – tumor povezan sa dugoročnom epilepsijom (eng. *long term epilepsy related*); PMG – polimikrogirija; TSC – kompleks tuberozne skleroze (eng. *tuberous sclerosis complex*); KM – kongenitalne malformacije; VM – vaskularne malformacije



Slika 42 Distribucija strukturne etiologije kod pacijenata sa fokalnom epilepsijom u ispitivanoj grupi pacijenata; HS – hipokampalna skleroza, FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*), KM – kongenitalne malformacije, VM – vaskularne malformacije, AIE – autoimuna epilepsija (N = 965)

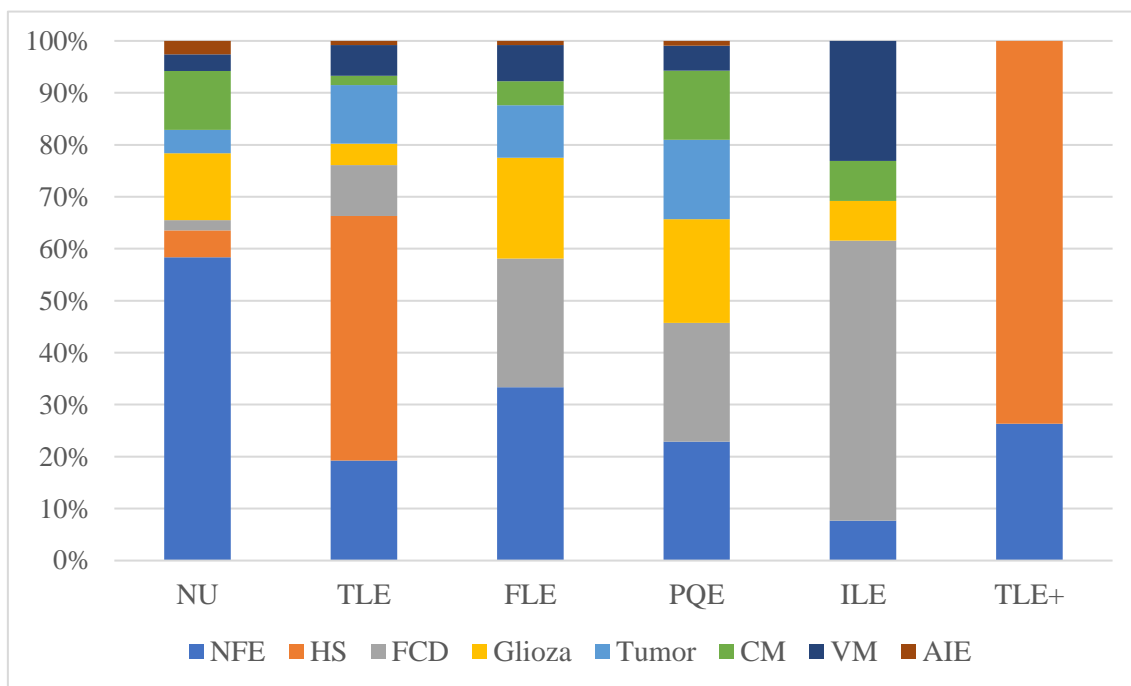
#### 4.1.5 Distribucija strukturne etiologije fokalne epilepsije kod pacijenata različite lobarne dijagnoze fokalne epilepsije

Distribucija strukturne etiologije se značajno razlikovala između pacijenata sa različitim lobarnom dijagnozom ( $p < 0,001$ ). Najčešća strukturna etiologija epilepsije kod pacijenata sa TLE je bila HS, dok je kod FLE i PQE na prvom mestu bila FCD, potom gliozna. Najčešća lobarna dijagnoza kod pacijenata sa nelezionom epilepsijom je bila TLE, ali je preko pola (55%) imalo neutvrđenu lobarnu dijagnozu (Tabela 25, Slika 43).

Tabela 25 Distribucija lobarne dijagnoze kod pacijenata različite strukturne etiologije fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata (N = 965)

		NLFE	HS	FCD	Glioza	Tumor	KM	VM	AIE	Σ
NU	N	181	16	6	40	14	35	10	8	310
	%	58,4	5,2	1,9	12,9	4,5	11,3	3,2	2,6	100,0
TLE	N	75	183	38	16	44	7	23	3	389
	%	19,3	47,0	9,8	4,1	11,3	1,8	5,9	0,8	100,0
FLE	N	43	0	32	25	13	6	9	1	129
	%	44,0	0,0	24,8	19,4	10,1	4,7	7,0	0,8	100,0
PQE	N	24	0	24	21	16	14	5	1	105
	%	22,9	0,0	22,9	20,0	15,2	13,3	4,8	1,0	100,0
ILE	N	1	0	7	1	0	1	3	0	13
	%	7,7	0,0	53,8	7,7	0,0	7,7	23,1	0,0	100,0
TLE+	N	5	14	0	0	0	0	0	0	19
	%	26,3	73,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0

NU – neuvrđena; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior quadrant epilepsy*); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); NLFE – neleziona fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*); KM – kongenitalna malgormacija; VM – vaskularna malformacija; AIE – autoimuna epilepsija



Slika 43 Distribucija lobarne dijagnoze kod pacijenata različite strukturne etiologije fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata; NU – neuvrđena; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior quadrant epilepsy*); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); NLFE – neleziona fokalna epilepsija; FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*); HS – hipokampalna skleroza; KM – kongenitalna malgormacija; AIE – autoimuna epilepsija; VM – vaskularna malformacija (N = 965)

#### 4.1.6 Porodična anamneza na epilepsiju i srodne poremećaje u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom

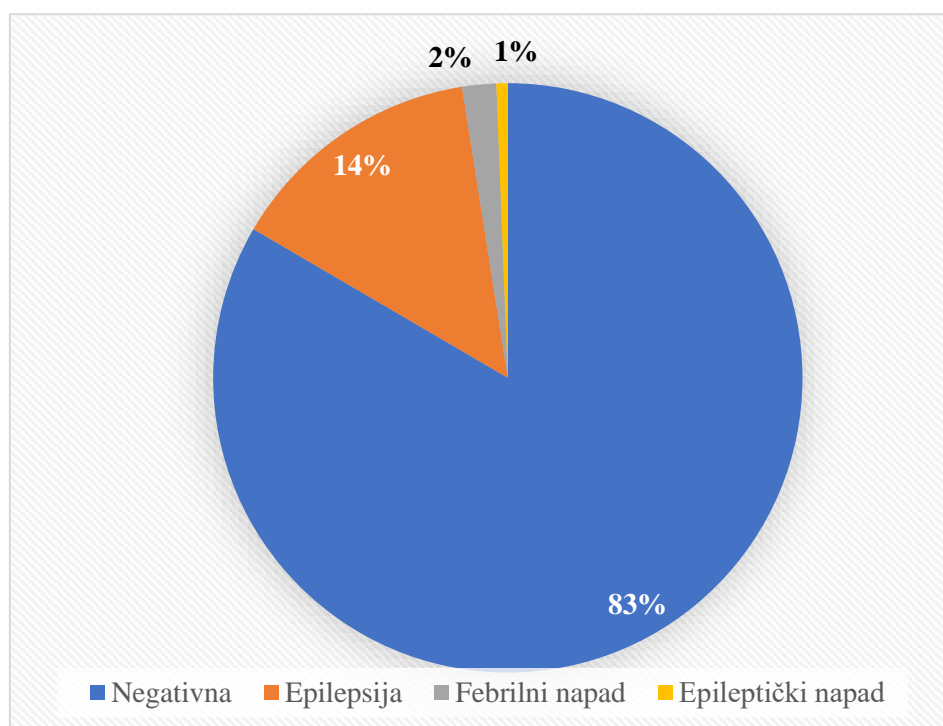
Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad ili febrilne napade je imalo 160 (16,6%) pacijenata. Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju je imalo 136

(14,1%) pacijenata, jedan spontani epileptički napad 6 (0,6%) i febrilne napade 18 (1,9%) pacijenata (Slika 44).

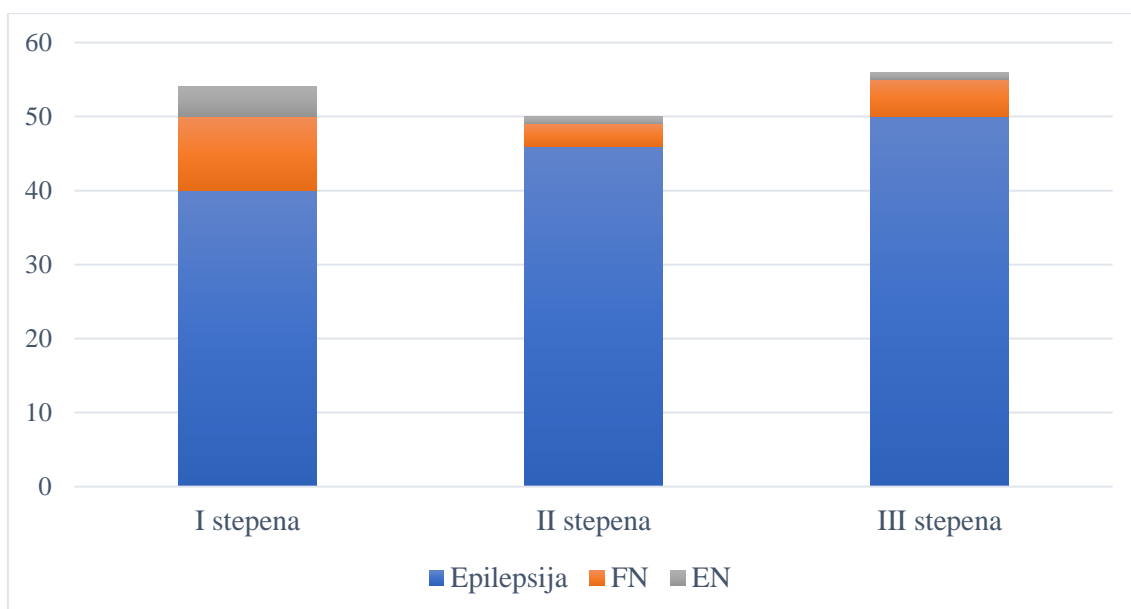
Tabela 26 Distribucija dijagnoza kod najbližeg obolelog srodnika (N = 965)

Stepen srodstva		I stepen srodstva	II stepen srodstva	III stepen srodstva	Σ
Epilepsija	n	40	46	50	136
	%N	4,1	4,7	5,2	14,1
Jedan spontani epileptički napad	n	4	1	1	6
	%N	0,4	0,1	0,1	0,6
Febrilni napad	n	10	3	5	18
	%N	1,0	0,3	0,5	1,9
Sve dijagnoze	n	54	50	56	160
	%N	5,6	5,2	5,8	16,6

Kada su posmatrani samo pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju, najbliži oboleli srodnik je bio I stepena srodstva, kod 29,4%, II stepena kod 33,8% i III stepena srodstva kod 36,8% pacijenata (Tabela 26, Slika 45). Nije pronađena statistički značajna razlika u ovoj distribuciji ( $p = 0,181$ ).

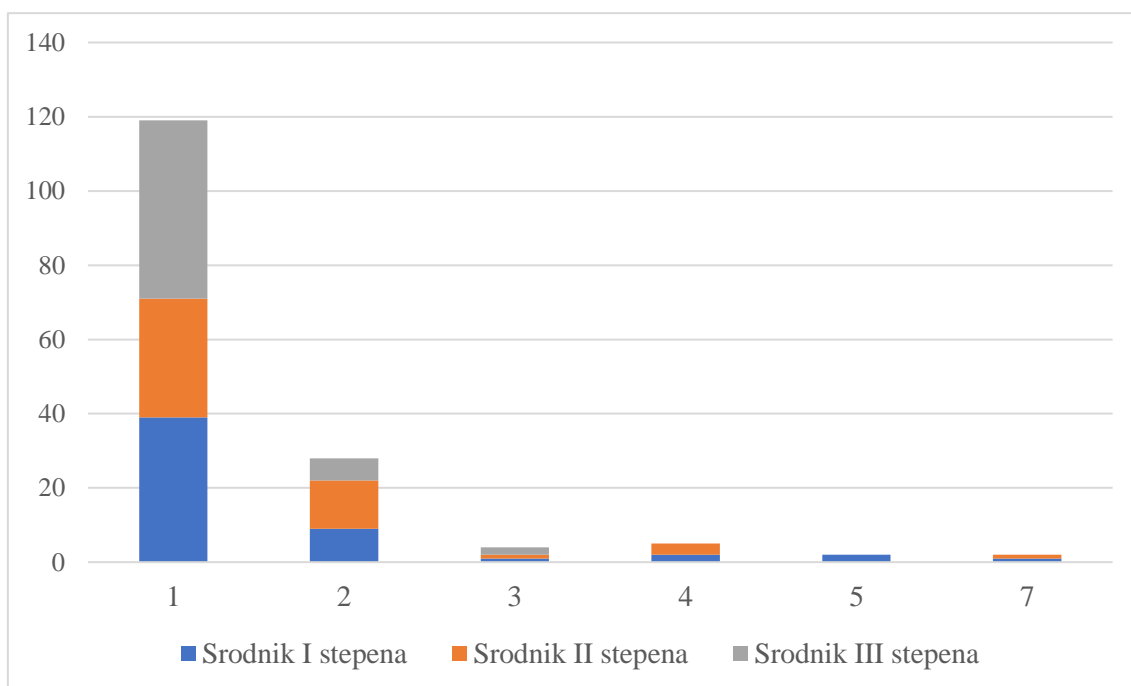


Slika 44 Distribucija porodične anamneze među pacijentima sa fokalnom epilepsijom (N = 965)



Slika 45 Distribucija dijagnoza kod najbližeg obolelog srodnika među pacijentima sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje, FN – febrilni napad, EN – jedan spontani epileptički napad (N = 160)

Sto-devetnaest pacijenata je imalo samo jednog obolelog srodnika, među kojima je kod 39 (32,8%) to bio srodnik I stepena srodstva, kod 32 (26,9%) II stepena srodstva i kod 48 (40,3%) trećeg stepena srodstva. Trinaest (8,1%) pacijenata je imalo preko 2 obolela srodnika (Slika 46, Tabela 27).



Slika 46 Distribucija stepena srodstva najbližeg obolelog srodnika prema broju obolelih srodnika među pacijentima sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje (N = 160)

Tabela 27 Distribucija stepena srodstva najbližeg obolelog srodnika prema broju obolelih srodnika (N = 965)

Broj obolelih srodnika		1	2	3	4	5	7
I stepen srodstva	n	39	9	1	2	2	1
	%N	4,1	1,0	0,1	0,2	0,2	0,1
II stepen srodstva	n	32	13	1	3	0	1
	%N	3,3	1,4	0,1	0,3	0,0	0,1
III stepen srodstva	n	48	6	2	0	0	0
	%N	5,0	0,6	0,2	0,0	0,0	0,0
Σ	n	119	28	4	5	2	2
	%N	12,3	2,9	0,4	0,5	0,2	0,2

## 4.2 Kliničke i radiološke karakteristike pacijenata sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom

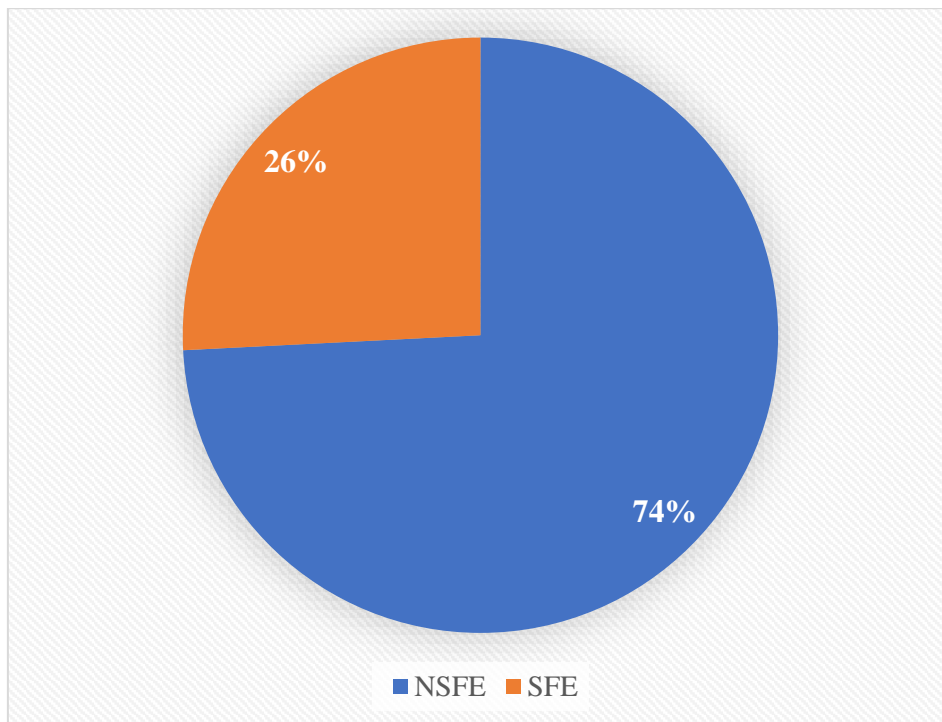
### 4.2.1 Učestalost nestečene i stečene fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata

Kod ukupno 716 (74,2%) pacijenata je postavljena dijagnoza NSFE, dok je kod 249 (25,8%) pacijenta postavljena dijagnoza SFE (Slika 47). Kada su poređeni pacijenti sa NSFE i SFE nije detektovana statistički značajna razlika u polnoj distribuciji i starosti. Pacijenti sa NSFE su imali statistički značajno raniji početak i duže trajanje bolesti, kao i veću učestalost pozitivne porodične anamneze u odnosu na pacijente sa SFE (Tabela 28).

Tabela 28 Demografske karakteristike pacijenata sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom

		Svi pacijenti sa fokalnom epilepsijom	Nestečena fokalna epilepsija	Stečena fokalna epilepsija	p
N (%)		965 (100)	716 (74,2)	249 (25,8)	
Pol [muški] N (%)		469 (48,6)	338 (47,2)	131 (52,6)	0,167
Starost [godine] $\bar{x}$ (interval)		32 (5-84)	32 (5-84)	32 (5-80)	0,927
Trajanje bolesti [godine] $\bar{x}$ (interval)		16 (0-61)	17 (0-61)	11 (0-56)	<0,001
Početak bolesti [godine] $\bar{x}$ (interval)		14 (0-78)	13 (0-78)	18 (0-77)	<0,001
Pozitivna porodična anamneza N (%)	Svi poremećaji	160 (16,6)	137 (19,1)	23 (9,2)	<0,001
	Epilepsija	136 (14,1)	115 (16,1)	21 (8,4)	0,003
Lobarna dijagnoza N (%)	NU	310 (32,1)	240 (33,5)	70 (28,1)	<0,001
	TLE	389 (40,3)	303 (42,6)	86 (34,0)	
	ETLE	266 (27,6)	171 (24,0)	95 (37,5)	

Statistički značajna p vrednost je predstavljena **bold** slovoima; NU – neutvrđena; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); ETLE – ekstratemoralna epilepsija (eng. *extratemporal lobe epilepsy*)



Slika 47 Distribucija nestručene (NSFE) i stručene fokalne epilepsije (SFE) u ispitivanoj grupi pacijenata sa fokalnom epilepsijom (N = 965)

Pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje su imali raniji početak epilepsije u odnosu na one kod kojih je porodična anamneza bila negativna u grupi pacijenata sa NSFE, dok u grupi pacijenata sa SFE nije nađena statistički značajna razlika u starosti na početku epilepsije u zavisnosti od porodične anamneze (Tabela 34). Svi oboleli od NSFE sa pozitivnom porodičnom anamnezom su oboleli do 39. godine života. Među obolelima sa SFE i pozitivnom porodičnom anamnezom jedan pacijent oboleo između 40. i 44. godine, dok su svi ostali oboleli do 39. godine (Tabela 29).

Tabela 29 Početak epilepsije u petogodišnjim intervalima kod NSFE i SFE sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom

Početak [god.]	Nestečena fokalna epilepsija									Stečena fokalna epilepsija								
	Porodična anamneza						Ukupno			Porodična anamneza						Ukupno		
	Pozitivna			Negativna						Pozitivna			Negativna					
	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%
<b>0-4</b>	44	32,1	32,1	104	18,0	18,0	148	20,7	20,7	3	13,0	13,0	28	12,4	12,4	31	12,4	12,4
<b>5-9</b>	25	18,2	50,4	85	14,7	32,6	110	15,4	36,0	2	8,7	21,7	32	14,2	26,5	34	13,7	26,1
<b>10-14</b>	27	19,7	70,1	103	17,8	50,4	130	18,2	54,2	3	13,0	34,8	36	15,9	42,5	39	15,7	41,8
<b>15-19</b>	17	12,4	82,5	90	15,5	66,0	107	14,9	69,1	8	34,8	69,6	23	10,2	52,7	31	12,4	54,2
<b>20-24</b>	9	6,6	89,1	65	11,2	77,2	74	10,3	79,5	4	17,4	87,0	23	10,2	62,8	27	10,8	65,1
<b>25-29</b>	7	5,1	94,2	47	8,1	85,3	54	7,5	87,0	1	4,3	91,3	25	11,1	73,9	26	10,4	75,5
<b>30-34</b>	6	4,4	98,5	22	3,8	89,1	28	3,9	90,9	0	0,0	91,3	17	7,5	81,4	17	6,8	82,3
<b>35-39</b>	2	1,5	100,0	24	4,1	93,3	26	3,6	94,6	1	4,3	95,7	16	7,1	88,5	17	6,8	89,2
<b>40-44</b>	0	0,0	100,0	18	3,1	96,4	18	2,5	97,1	1	4,3	100,0	6	2,7	91,2	7	2,8	92,0
<b>45-49</b>	0	0,0	100,0	5	0,9	97,2	5	0,7	97,8	0	0,0	100,0	7	3,1	94,2	7	2,8	94,8
<b>50-54</b>	0	0,0	100,0	8	1,4	98,6	8	1,1	98,9	0	0,0	100,0	5	2,2	96,5	5	2,0	96,8
<b>55-59</b>	0	0,0	100,0	2	0,3	99,0	2	0,3	99,2	0	0,0	100,0	6	2,7	99,1	6	2,4	99,2
<b>60-64</b>	0	0,0	100,0	3	0,5	99,5	3	0,4	99,6	0	0,0	100,0	1	0,4	99,6	1	0,4	99,6
<b>65-69</b>	0	0,0	100,0	0	0	99,5	0	0	99,6	0	0,0	100,0	0	0,0	99,6	0,0	0,0	99,6
<b>70-74</b>	0	0,0	100,0	2	0,3	99,8	2	0,3	99,9	0	0,0	100,0	0	0,0	99,6	0,0	0,0	99,6
<b>75-79</b>	0	0,0	100,0	1	0,2	100,0	1	0,1	100,0	0	0,0	100,0	1	0,4	100,0	1	0,4	100,0
<b>Σ</b>	<b>137</b>	<b>100,0</b>		<b>579</b>	<b>100,0</b>		<b>716</b>	<b>100,0</b>		<b>23</b>	<b>100,0</b>		<b>226</b>	<b>100,0</b>		<b>249</b>	<b>100,0</b>	



#### 4.2.2 Distribucija lobarne dijagnoze među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom

Pri analizi pacijenata sa utvrđenom lobarnom dijagnozom, pacijenti sa NSFE su statistički značajno češće imali TLE u odnosu na pacijente sa SFE (304 pacijenta, 63,9% vs. 85 pacijenata, 47,5%,  $p < 0,001$ ), dok su pacijenti sa NSFE ređe imali ETLE u odnosu na pacijente sa SFE (172 pacijenta, 36,1% vs. 94 pacijenta 52,5%,  $p < 0,001$ ). Pacijenti sa NLFE su češće imali TLE (50,7%) dok su FLE i PQE češće imali pacijenti sa SFE (26,8% i 23,5%,  $p < 0,001$ , Tabela 30). Pacijenti sa HS su isključivo imali TLE ili TLE+.

Tabela 30 Distribucija lobarnih sindroma među pacijentima sa fokalnom epilepsijom različite strukturne etiologije

		TLE	FLE	PQE	ILE	TLE+	Ukupno ETLE
NLFE	N	75	43	24	1	5	73
	%	50,7	29,1	16,2	0,7	3,4	49,3
HS	N	183	0	0	0	14	14
	%	92,9	0,0	0,0	0,0	7,1	7,1
KPE	N	46	38	39	8	0	85
	%	35,1	29,0	29,8	6,1	0,0	64,9
SFE	N	85	48	42	4	0	94
	%	47,5	26,8	23,5	2,2	0,0	52,5
Σ	N	389	129	105	13	19	266
	%	59,4	19,7	16,0	2,0	2,9	40,6

NLFE – neleziona fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; KPE – kongenitalna i perinatalna etiologija; NSFE – nestečena fokalna epilepsija; SFE – stečena fokalna epilepsija; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior quadrant epilepsy*); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); ETLE – ekstratemporalna epilepsija (eng. *extratemporal lobe epilepsy*)

#### 4.2.3 Distribucija porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom

Kao što je pomenuto u ranijem tekstu, oboleli od NSFE su češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodne poremećaje u odnosu na obolele od SFE (Tabela 28). Učestalost pozitivne porodične anamneze je bila statistički značajno veća među obolelima od nelezionne NSFE i HS u odnosu na SFE, dok je u grupi KPE bila na granici statističke značajnosti (Tabela 31), što se održavalo nezavisno od dijagnoze postavljene kod najbližeg obolelog srodnika (Tabela 32, Slika 48).

Tabela 31 Distribucija porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje kod pacijenata različite strukturne etiologije NSFE

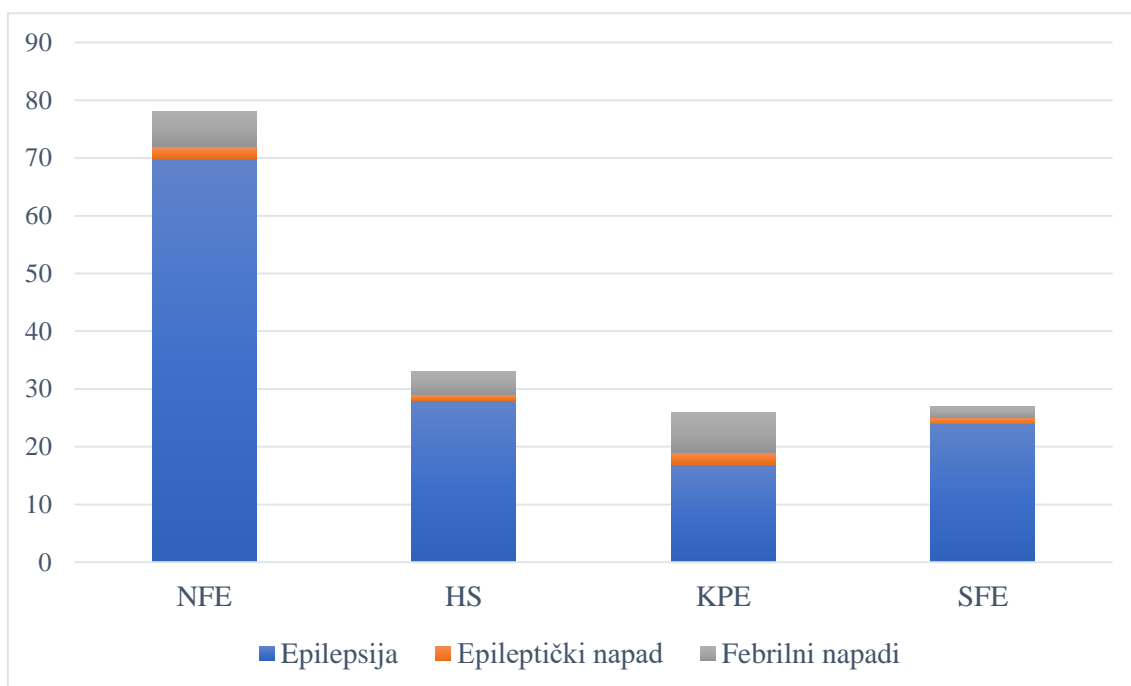
		Porodična anamneza			
		Pozitivna	Negativna	Σ	<i>p</i>
Neleziona NSFE	N	78	251	329	<0,001*
	%	23,7	76,3		
Hipokampalna skleroza	N	33	180	213	0,028*
	%	15,5	84,5		
Kongenitalna i perinatalna etiologija	N	26	148	174	0,050*
	%	14,9	85,1		
Stečena fokalna epilepsija	N	23	226	249	-
	%	9,2	89,3		
Σ	N	160	805	965	<0,001 <sup>§</sup>
	%	16,6	83,4		

NSFE – nestečena fokalna epilepsija; E – epilepsija; JSEN – jedan spontani epileptički napad; FN – febrilni napadi; \**p* vrednost u direktnoj komparaciji sa SFE; <sup>§</sup>*p* vrednost celokupne distribucije; statistički značajne vrednosti *p* su navedene u bold slovima

Tabela 32 Distribucija stepena srodstva najbližeg obolelog srodnika, broja obolelih srodnika i dijagnoze kod najbližeg obolelog srodnika među pacijentima sa fokalnom epilepsijom različite strukturne etiologije fokalne epilepsije

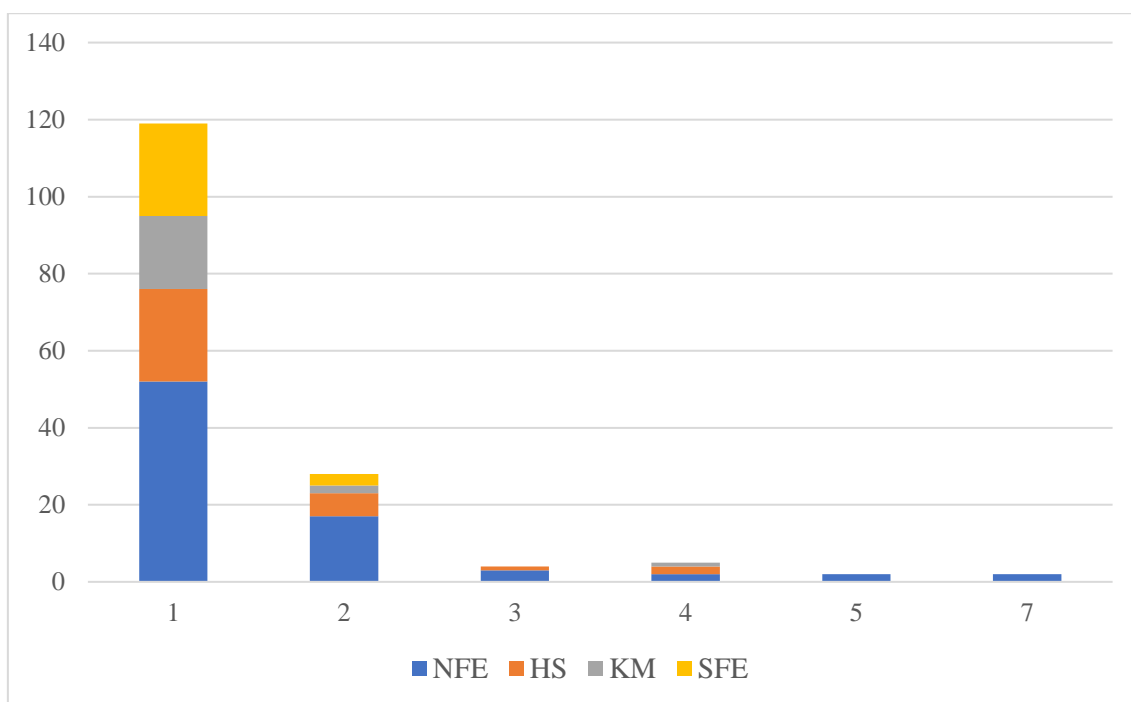
		NLFE	HS	KPE	Σ NSFE	SFE	<i>p</i>
<b>Najbliži oboleli srodnik N (%)</b>	Samo prvog stepena srodstva	24 (7,3)	11 (5,2)	9 (5,2)	44 (6,1)	10 (4,0)	0,375* 0,262 <sup>§</sup>
	Do drugog stepena srodstva	55 (16,7)	23 (10,8)	14 (8,0)	92 (12,8)	12 (4,8)	<b>&lt;0,001*</b> <b>&lt;0,001<sup>§</sup></b>
	Do trećeg stepena srodstva	78 (23,7)	33 (15,5)	26 (14,9)	137 (19,1)	23 (9,2)	<b>&lt;0,001*</b> <b>&lt;0,001<sup>§</sup></b>
<b>Broj obolelih srodnika N (%)</b>	Jedan	52 (15,8)	24 (11,3)	22 (12,6)	98 (13,7)	21 (8,4)	<b>0,001*</b> <b>0,001<sup>§</sup></b>
	Dva	17 (5,2)	6 (2,8)	3 (1,7)	26 (3,6)	2 (0,8)	
	Tri ili više	9 (2,7)	3 (1,4)	1 (0,6)	13 (1,8)	0 (0,0)	
<b>Dijagnoza kod obolelih srodnika N (%)</b>	Epilepsija	70 (21,3)	28 (13,1)	17 (9,8)	115 (16,1)	21 (8,4)	<b>&lt;0,001*</b> <b>0,003<sup>§</sup></b>
	Febrilni napadi	6 (1,8)	4 (1,9)	7 (4,0)	17 (2,4)	1 (0,4)	
	Jedan spontani epileptički napad	2 (0,6)	1 (0,5)	2 (1,1)	5 (0,7)	1 (0,4)	

NLFE – neleziona fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; KPE – kongenitalna i perinatalna etiologija; NSFE – nestečena fokalna epilepsija; SFE – stečena fokalna epilepsija, \**p* vrednost za poredenje između NLFE; HS, KPE i SFE; <sup>§</sup>*p* vrednost za poredenje između NSFE i SFE; značajne *p* vrednosti predstavljene **bold** slovima



Slika 48 Distribucija dijagnoza kod obolelih srodnika pacijenata sa različitom strukturnom etiologijom fokalne epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata (N = 160); NLFE – neleziona fokalna epilepsija, HS – hipokampalna skleroza; KPE – kongenitalna i perinatalna etiologija, SFE – stečena fokalna epilepsija

Najveći broj obolelih srodnika koji su imali pacijenti sa SFE je bio dva i to kod dva pacijenta (Tabela 32). Dva pacijenta sa HS i jedan pacijent sa KPE su imali po četiri obolela srodnika, a jedan pacijent sa HS je imao tri obolela srodnika (Slika 49). Svi pacijenti sa preko četiri obolela srodnika su bolovali od NLFE (dva sa pet i dva sa sedam obolelih srodnika).



Slika 49 Distribucija strukturne etiologije epilepsije kod pacijenata sa različitim brojem obolelih srodnika u ispitivanoj grupi pacijenata (N = 160)

#### 4.2.3.1 Distribucija lobarnih sindroma među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom u zavisnosti od porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje

Pri analizi pacijenata sa utvrđenom lobarnom dijagnozom, nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji lobarnih sindroma u zavisnosti od porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje (Tabela 33).

Tabela 33 Distribucija lobarnih sindroma kod pacijenata sa NSFE u zavisnosti od porodične anamneze

	Porodična anamneza	TLE	FLE	PQE	ILE	TLE+	Σ ETLE	p	
NLFE	Negativna	N	60	33	16	1	3	88	0,583* 0,336 <sup>§</sup>
		%	53,1%	29,2%	14,2%	0,9%	2,7%	52,7%	
	Pozitivna	N	15	10	8	0	2	6	
		%	42,9%	28,6%	22,9%	0,0%	5,7%	50,0%	
KPE	Negativna	N	39	34	36	6	0	76	0,484* 0,577 <sup>§</sup>
		%	33,9%	29,6%	31,3%	5,2%	0,0%	66,1%	
	Pozitivna	N	7	4	3	2	0	9	
		%	43,8%	25,0%	18,8%	12,5%	0,0%	56,3%	
HS	Negativna	N	156	0	0	0	10	10	0,243* 0,243 <sup>§</sup>
		%	94,0%	0,0%	0,0%	0,0%	6,0%	6,0%	
	Pozitivna	N	27	0	0	0	4	4	
		%	87,1%	0,0%	0,0%	0,0%	12,9%	12,9%	
Σ NSFE	Negativna	N	255	67	52	7	13	139	p = 0,530* p = 0,449 <sup>§</sup>
		%	64,7%	17,0%	13,2%	1,8%	3,3%	35,3%	
	Pozitivna	N	49	14	11	2	6	33	
		%	59,8%	17,1%	13,4%	2,4%	7,3%	40,2%	

NLFE – neleziona fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; KPE – kongenitalna i perinatalna etiologija; NSFE – nestečena fokalna epilepsija; NSFE – nestečena fokalna epilepsija; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior lobe epilepsy*); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja i srodnih poremećaja (eng. *temporal lobe epilepsy and related disorders*); Σ ETLE – ukupna etiologija epilepsije i srodnih poremećaja (eng. *total etiology of epilepsy and related disorders*).

posterior quadrant epilepsy); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); \**p* vrednost za poređenje u distribuciji TLE; FLE; PQE, ILE i TLE+ između pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom; \$*p* vrednost za poređenje u distribuciji TEL i ETLE između pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom

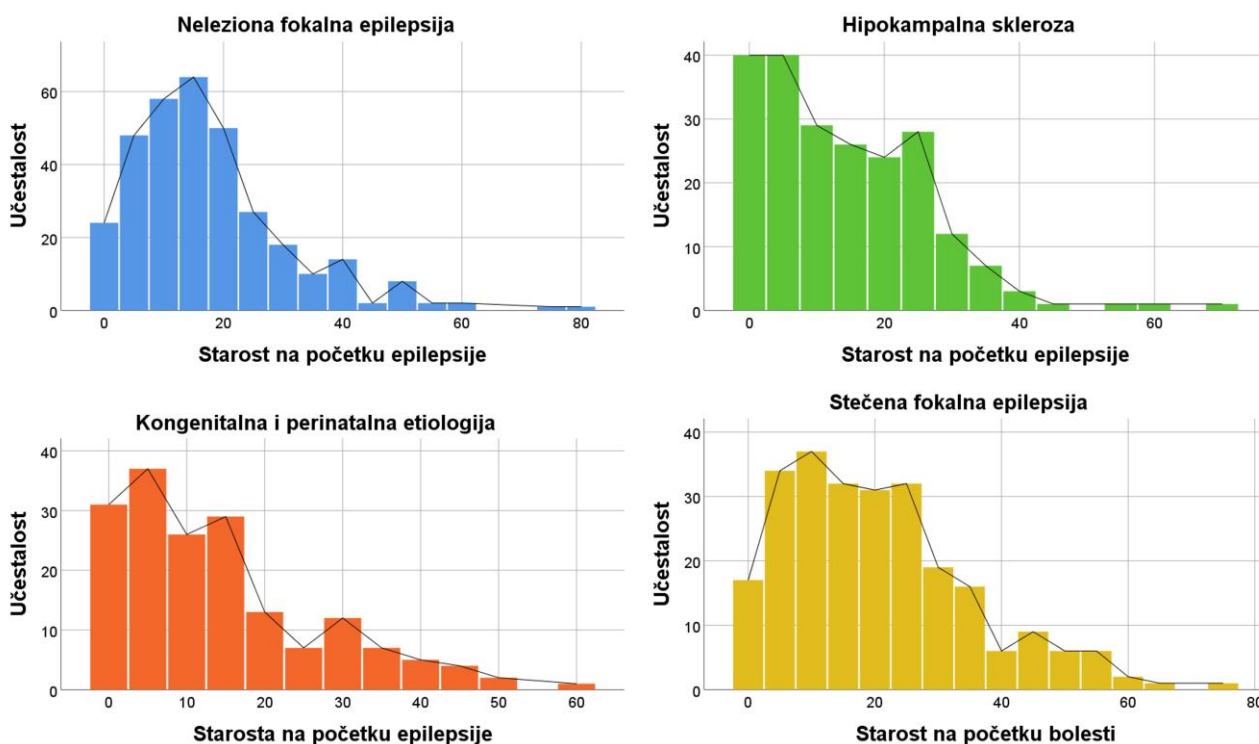
#### 4.2.4 Starost na početku epilepsije kod pacijenta različite strukturne etiologije bolesti u ispitivanoj grupi pacijenata

Pacijenti sa NLFE, HS i KPE su imali raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE međutim u grupi obolelih sa NLFE ova razlika nije dostigla nivo statističke značajnosti (Tabela 34, Slika 50). Pacijenti sa nelezionom NSFE i kongenitalnim malformacijama su bili značajno mlađi na početku bolesti ukoliko su imali pozitivnu porodičnu anamnezu, dok razlika nije bila statistički značajna u grupi obolelih sa SFE i HS (Tabela 34). Najmanji procenat obolelih tokom prvih pet godina života je bilo u grupi NLFE i SFE. Pacijenti su od epilepsije udružene sa HS najkasnije oboljevali do 74, a od epilepsije KPE sa 64. godine, dok su od NLFE i SFE oboljevali do 79, godine (Tabela 35).

Tabela 34 Starost na početku epilepsije u različitim strukturnim etiologijama u ispitivanoj grupi pacijenata (N = 965)

	Porodična anamneza					Σ		
	Pozitivna		Negativna		<i>p</i>	Početak bolesti [godine]	n	<i>p</i>
	Početak bolesti [godine]	n	Početak bolesti [godine]	n				
<b>NLFE</b>	12 (0-34)	78	17 (0-78)	251	<b>&lt;0,001</b>	15 (0-78)	329	0,066*
<b>HS</b>	6 (0-36)	33	13 (0-70)	180	0,086	12 (0-70)	213	<b>&lt;0,001</b> *
<b>KPE</b>	3 (0-37)	26	12,5 (0-60)	148	<b>&lt;0,001</b>	11 (0-60)	174	<b>&lt;0,001</b> *
<b>NSFE</b>	9 (0-37)	137	14 (0-78)	579	<b>&lt;0,001</b>	13 (0-78)	716	<b>&lt;0,001</b> *
<b>SFE</b>	17 (2-44)	23	18 (0-77)	226	0,483	18 (0-77)	249	NP

NLFE – neleziona fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; KPE – kongenitalna i perinatalna etiologija; SFE – stečena fokalna epilepsija; NP – nije primenjivo; \**p* vrednost u direktnoj komparaciji sa SFE; statistički značajne vrednosti *p* su navedene u **bold** slovima



Slika 50 Histogrami starosti na početku epilepsije kod pacijenata sa fokalnom epilepsijom različite strukturne etiologije (N = 965)

Tabela 35 Početak epilepsije u petogodišnjim intervalima kod NSFE različite strukturne etiologije i SFE sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom

Početak [god.]	Neleziona fokalna epilepsija									Fokalna epilepsija sa hipokampalnom sklerozom								
	Porodična anamneza						Ukupno			Porodična anamneza						Ukupno		
	Pozitivna			Negativna						Pozitivna			Negativna					
	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%
0-4	17	21,8	21,8	23	9,2	9,2	40	12,2	12,2	13	39,4	39,4	46	25,6	25,6	59	27,7	27,7
5-9	16	20,5	42,3	36	14,3	23,5	52	15,8	28,0	7	21,2	60,6	23	12,8	38,3	30	14,1	41,8
10-14	18	23,1	65,4	48	19,1	42,6	66	20,1	48,0	4	12,1	72,7	30	16,7	55,0	34	16,0	57,7
15-19	12	15,4	80,8	48	19,1	61,8	60	18,2	66,3	2	6,1	78,8	20	11,1	66,1	22	10,3	68,1
20-24	8	10,3	91,0	33	13,1	74,9	41	12,5	78,7	1	3,0	81,8	27	15,0	81,1	28	13,1	81,2
25-29	4	5,1	96,2	17	6,8	81,7	21	6,4	85,1	2	6,1	87,9	18	10,0	91,1	20	9,4	90,6
30-34	3	3,8	100,0	9	3,6	85,3	12	3,6	88,8	3	9,1	97,0	5	2,8	93,9	8	3,8	94,4
35-39	0	0,0	100,0	12	4,8	90,0	12	3,6	92,4	1	3,0	100,0	6	3,3	97,2	7	3,3	97,7
40-44	0	0,0	100,0	11	4,4	94,4	11	3,3	95,7	0	0,0	100,0	2	1,1	98,3	2	0,9	98,6
45-49	0	0,0	100,0	3	1,2	95,6	3	0,9	96,7	0	0,0	100,0	0	0,0	98,3	0	0,0	98,6
50-54	0	0,0	100,0	6	2,4	98,0	6	1,8	98,5	0	0,0	100,0	1	0,6	98,9	1	0,5	99,1
55-59	0	0,0	100,0	1	0,4	98,4	1	0,3	98,8	0	0,0	100,0	1	0,6	99,4	1	0,5	99,5
60-64	0	0,0	100,0	2	0,8	99,2	2	0,6	99,4	0	0,0	100,0	0	0,0	99,4	0	0,0	99,5
65-69	0	0,0	100,0	0	0,0	99,2	0	0,0	99,4	0	0,0	100,0	0	0,0	99,4	0	0,0	99,5
70-74	0	0,0	100,0	2	0,3	99,6	1	0,3	99,7	0	0,0	100,0	1	0,6	100,0	1	0,5	100,0
75-79	0	0,0	100,0	1	0,2	100,0	1	0,3	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0
<b>Σ</b>	<b>78</b>	<b>100,0</b>		<b>251</b>	<b>100,0</b>		<b>329</b>	<b>100,0</b>		<b>33</b>	<b>100,0</b>		<b>180</b>	<b>100,0</b>		<b>213</b>	<b>100,0</b>	

Početak [god.]	Fokalna epilepsija kongenitalne ili perinatalne etiologije									Stečena fokalna epilepsija								
	Porodična anamneza						Ukupno			Porodična anamneza						Ukupno		
	Pozitivna			Negativna						Pozitivna			Negativna					
	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%	N	%	Σ%
0-4	14	53,8	53,8	35	23,6	23,6	49	28,2	20,7	3	13,0	13,0	28	12,4	12,4	31	12,4	12,4
5-9	2	7,7	61,5	26	17,6	41,2	28	16,1	36,0	2	8,7	21,7	32	14,2	26,5	34	13,7	26,1
10-14	5	19,2	80,8	25	16,9	58,1	30	17,2	54,2	3	13,0	34,8	36	15,9	42,5	39	15,7	41,8
15-19	3	11,5	92,3	22	14,9	73,0	25	14,4	69,1	8	34,8	69,6	23	10,2	52,7	31	12,4	54,2
20-24	0	0,0	92,3	5	3,4	76,4	5	2,9	79,5	4	17,4	87,0	23	10,2	62,8	27	10,8	65,1
25-29	1	3,8	96,2	12	8,1	84,5	13	7,5	87,0	1	4,3	91,3	25	11,1	73,9	26	10,4	75,5
30-34	0	0,0	96,2	8	5,4	89,9	8	4,6	90,9	0	0,0	91,3	17	7,5	81,4	17	6,8	82,3
35-39	1	3,8	100,0	6	4,1	93,9	7	4,0	94,6	1	4,3	95,7	16	7,1	88,5	17	6,8	89,2
40-44	0	0,0	100,0	5	3,4	97,3	5	2,9	97,1	1	4,3	100,0	6	2,7	91,2	7	2,8	92,0
45-49	0	0,0	100,0	2	1,4	98,6	2	1,1	97,8	0	0,0	100,0	7	3,1	94,2	7	2,8	94,8
50-54	0	0,0	100,0	1	0,7	99,3	1	0,6	98,9	0	0,0	100,0	5	2,2	96,5	5	2,0	96,8
55-59	0	0,0	100,0	0	0,0	99,3	0	0,0	98,9	0	0,0	100,0	6	2,7	99,1	6	2,4	99,2
60-64	0	0,0	100,0	1	0,7	100,0	1	0,6	100,0	0	0,0	100,0	1	0,4	99,6	1	0,4	99,6
65-69	0	0,0	100,0	0	0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	99,6	0,0	0,0	99,6
70-74	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	99,6	0,0	0,0	99,6
75-79	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	0	0,0	100,0	1	0,4	100,0	1	0,4	100,0
<b>Σ</b>	<b>26</b>	<b>100,0</b>		<b>148</b>	<b>100,0</b>		<b>174</b>	<b>100,0</b>		<b>23</b>	<b>100,0</b>		<b>226</b>	<b>100,0</b>		<b>249</b>	<b>100,0</b>	

### 4.3 Ugnježdjena molekularno-genetička studija

#### 4.3.1 Demografske i kliničke karakteristike kohorte pacijenata u ugnježdjenoj molekularno-genetičkoj studiji

##### 4.3.1.1 Demografske i kliničke karakteristike kohorte pacijenata u ugnježdjenoj molekularno-genetičkoj studiji

Naša kohorta se sastojala od 96 pacijenata sa NSF (51 muškarca [53,1%] i 45 [46,9%] žena), prosečne starosti  $36.5 \pm 10.8$  godina, prosečne starosti na početku bolesti  $14.3 \pm 10.2$  godine i prosečnog trajanja epilepsije  $22.1 \pm 13.7$  godine. Izuzev četiri pacijenta sa novodijagnostikovanom epilepsijom, svi ostali pacijenti su zadovoljavali kriterijume za FRE. Demografske, kliničke i radiološke karakteristike kohorte su prikazane u Tabela 36

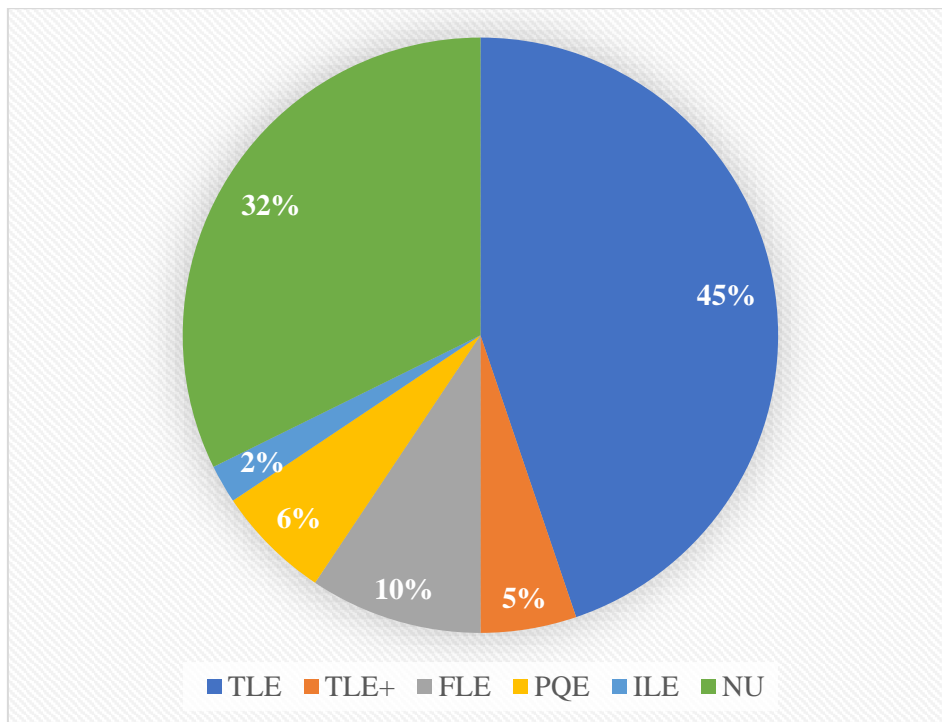
Tabela 36 Demografske, kliničke i radiološke karakteristike kohorte pacijenata uključene u ugnježdenu molekularno-genetičku studiju (N = 96)

<b>Starost [godine]</b>		36.5 ± 10.8 ( $\bar{x} \pm SD$ )
<b>Starost na početku epilepsije [godine]</b>		14.3 ± 10.2 ( $\bar{x} \pm SD$ )
<b>Trajanje epilepsije [godine]</b>		22.1 ± 13.7 ( $\bar{x} \pm SD$ )
<b>Pol [muški/ženski]</b>		51/45 (53,1%/46,9%)
<b>Broj isprobanih AEL</b>		5.2 ± 2.1 ( $\bar{x} \pm SD$ )
<b>Febrilni napadi N (%)</b>		17 (17,7%)
<b>Minor povreda glave N (%)</b>		15 (15,6%)
<b>Fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade N (%)</b>		47 (49,0%)
<b>Klasteri napada N (%)</b>		31 (32,3%)
<b>Epileptički status N (%)</b>		8 (8,3%)
<b>Lobarna dijagnoza N (%)</b>	TLE	43 (44,8%)
	FLE	9 (9,4%)
	PQE	6 (6,3%)
	ILE	2 (2,1%)
	TLE+	5 (5,2%)
	Neutvrđena	31 (32,3%)
<b>MR nalaz N (%)</b>	Neleziona	76 (79,2%)
	HS	16 (16,7%)
	FCD	4 (4,2%)
<b>Pozitivna porodična anamneza N (%)</b>	Ukupno	65 (67,7%)
	Srodnik I stepena	22 (22,9%)
	Srodnik II stepena	23 (24,0%)
	Srodnik III stepena	20 (20,8%)
	Više srodnika	25 (26,0%)

SD – standardna devijacija; AEL – antiepileptički lekovi; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta (eng. *posterior quadrant epilepsy*); ILE – epilepsija insularnog režnja (eng. *insular lobe epilepsy*); TLE+ – epilepsija temporalnog režnja plus (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); MR – magnetna rezonancija; HS – hipokampalna skleroza; FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*)

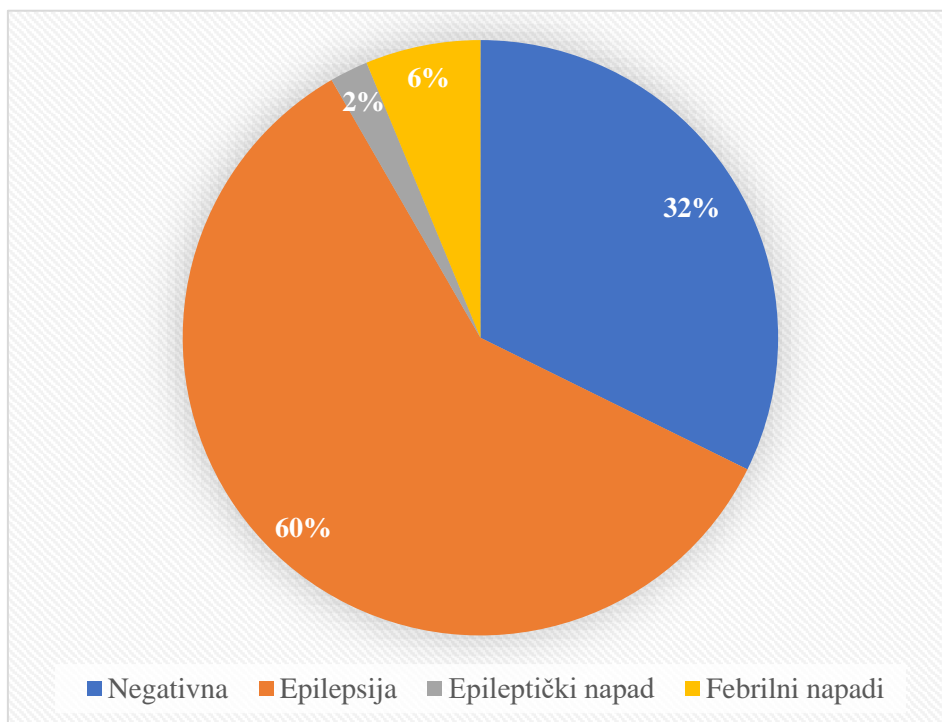
##### 4.3.1.2 Distribucija lobarnih sindroma u grupi pacijenata pacijenata u ugnježdjenoj molekularno-genetičkoj studiji

Najzastupljenija lobarna dijagnoza je bila TLE koja je dijagnostikovana kod 43 (44,8%) pacijenata (Tabela 36, Slika 51). Druga po učestalosti je bila FLE sa 9 (9,4%) pacijenata, a potom PQE 6 (6,3%).



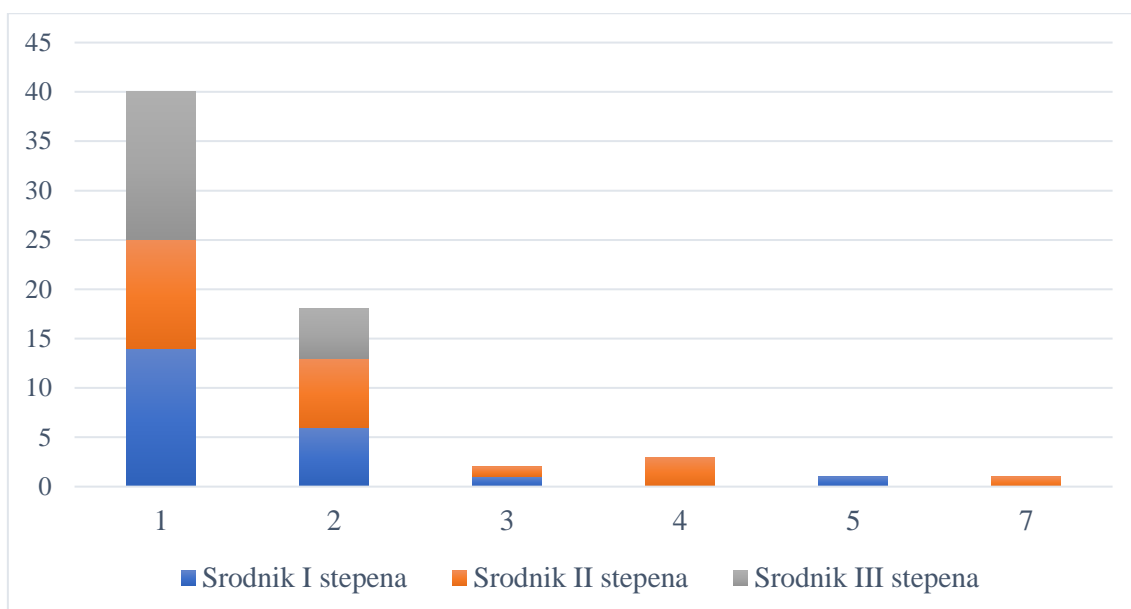
Slika 51 Distribucija lobarnih sindroma kod pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji (N = 96)

#### 4.3.1.3 Distribucija porodične anamneze na epilepsiju, epileptičke napade i febrilne napade kod pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji



Slika 52 Distribucija dijagnoze kod obolelih srodnika u grupi pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji (N = 96)





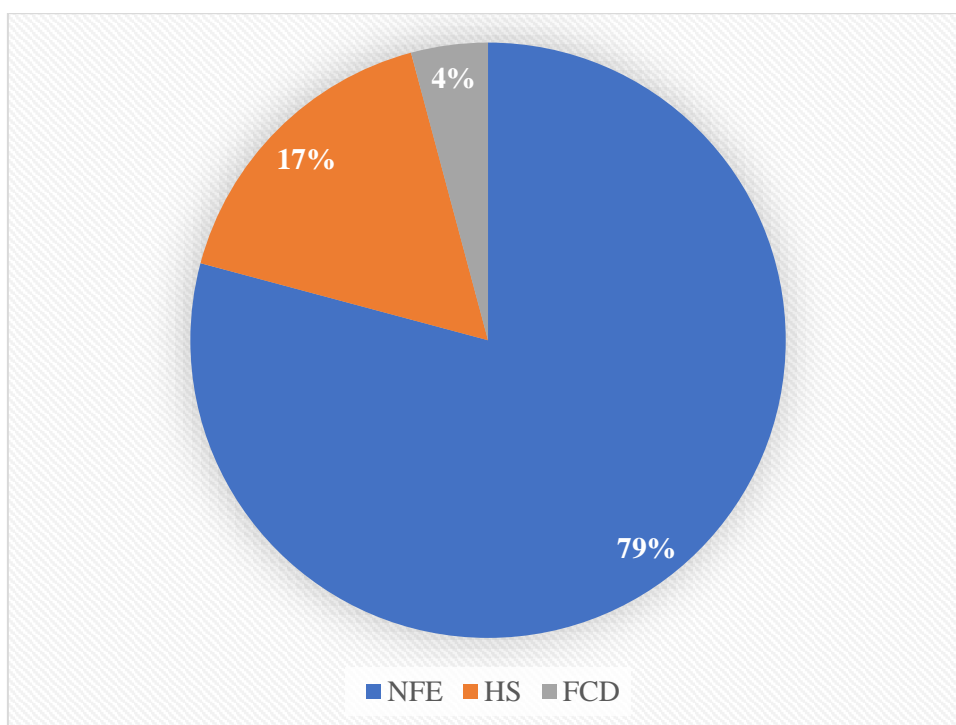
Slika 53 Distribucija stepena srodstva najbližeg obolelog srodnika i broja obolelih srodnika u grupi pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji (N = 96)

Šezdeset i pet (67,7%) pacijenata je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad i febrilne napade. Dijagnoza kod obolelih srodnika je bila epilepsija kod 57 (59,4%), jedan spontani epileptički napad kod dva (2,1%) i febrilni napadi kod 6 (6,3%) pacijenata (Tabela 36, Slika 52).

Kod 22 (22,9%) pacijenata je najbliži oboleli srodnik bio srodnik I, kod 23 (24,0%) II, dok je kod 20 (20,8%) bio III stepena srodstva. Četrdeset pacijenata je imalo jednog obolelog srodnika, 18 dva, dva tri, tri četiri i po jedan pet i 7 obolelih srodnika (Tabela 36, Slika 53).

#### 4.3.1.4 Radiološki utvrđena strukturna etiologija epilepsije kod pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji

Sedamdeset šest (79,2%) pacijenata je imalo nelezionu NSFE, 16 (16,7%) je imalo HS i četiri (4,2%) je imalo FCD (Tabela 36, Slika 54).



Slika 54 Radiološki definisana strukturalna etiologija epilepsije u grupi pacijenata u ugnježdenoj molekularno-genetičkoj studiji (N = 96)

#### 4.3.2 Varijante od interesa u ispitivanim genima

Ukupno 8 VOI je detektovano kod 10 (10,4%) pacijenata u ispitivanoj grupi pacijenata. Pet VOI detektovanih kod 7 (7,3%) pacijenata, su klasifikovane kao verovatno patogene, dve, detektovane kod dva (2,1%) pacijenta kao VUS i jedna, detektovana kod jednog pacijenta (1,0%) kao verovatno benigna (Tabela 37). Ukupan dijagnostički prinos čitavog panela od 7 gena je iznosio 7,3%.

Nije pronađena statistički značajna razlika u udelu nosilaca VOI između grupe pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom (13,8% vs. 3,2%,  $p = 0,160$ ), kao ni između grupe pacijenata sa lezionom i nelezionom NSFE (20,0% vs. 7,9%,  $p = 0,209$ ). Nije pronađena statistički značajna razlika u demografskim i kliničkim karakteristikama pacijenata koji su nosioci i onih koji nisu nosioci VOI, izuzev u distribuciji lobarnih dijagnoza (

Tabela 38). Među pacijentima koji su nosioci VOI je pronađena veća zastupljenost pacijenata sa dijagnozom ekstratemporalne epilepsije u odnosu na pacijente koji nisu nosioci varijanti.

Tabela 37 Varijante od interesa u ispitivanim genima

Pac.	Gen	Varijanta	Mol. posl.	gAD. MAF	ISP	KV	ACMG-AMP krit.
1	DEPDC5	c.422_432del, p.Ala141ValfsTer3	FSV	0	NA	VPV	PSV1, PM2
2	DEPDC5	c.1287+2T>G	SDV	0	SpliceAI 1.00	VPV	PSV1, PM2
3	NPRL2	c.197_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45	FSV	0	NA	VPV	PSV1, PM2
4	NPRL3	c.1495C>T, p.Leu499Phe	MSV	0	MetaRNN D; REVEL 0.172, CADD 24.6	VUS	PM2, PP3, BP4
5-6	SCN1A	c.2123_2154dup, p.Ile719ProfsTer7	FSV	0	NP	VPV	PSV1, PM2

7	<i>GRIN2A</i>	c.3578T>G, p.Leu1193Trp	MSV	0.0001	MetaRNN T; REVEL 0.222; CADD 25.6	VBV	BP4, BP6
8	<i>GRIN2A</i>	c.1586T>C, p.Val529Ala	MSV	0	MetaRNN D; REVEL 0.337; CADD 26.7	VUS	PM2, PP2, PP3, BP4
9-10	<i>PCDH19</i>	c.2417_2433dup, p.Asn812ProfsTer2	FSV	0	NP	VPV	PSV1, PM2

Pac. – pacijent; Mol.posl. – molekularna posledica; gAD – GnomAD; MAF – učestalost retkog alela (eng. *minor allele frequency*); ISP – *in silico* predikcija; KV – klasifikacija varijante; NP – nije primenjivo; VPV – verovatno patogena; VBV – verovatno benigna; VUS - varijanta nepoznatog značaja (eng. *variant of unknown significance*)

Tabela 38 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u ispitivanim genima

	Nosioci VOI	Bez VOI	<i>p</i>
N (%)	10 (10,4)	86 (89,6)	
Starost [godine]	38,7±15,3 ( $\bar{x} \pm SD$ )	36,2±10,4 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,442
Starost na početku epilepsije [godine]	15,0±11,3 ( $\bar{x} \pm SD$ )	14,2±10,1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,796
Trajanje epilepsije [godine]	23,7±17,9 ( $\bar{x} \pm SD$ )	21,9±13,2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,862
Pol (muški/ženski)	5/5 (50,0%/50,0%)	46/40 (53,5%/46,5%)	1,000
Broj isprobanih AEL	6,2±2,6 ( $\bar{x} \pm SD$ )	5,1±2,1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,195
Febrilni napadi	2 (20,0%)	15 (17,4%)	1,000
Minor povreda glave	2 (20,0%)	13 (15,1%)	0,653
Fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade	4 (40,0%)	43 (50,0%)	0,741
Klasteri napada	4 (40,0%)	27 (31,4%)	0,723
Epileptički status	1 (10,0%)	7 (8,1%)	1,000
Lobarna dijagnoza (TLE/ETLE)	3/6 (30,0%/60,0%)	40/16 (46,5%/18,6%)	<b>0,011</b>
Lezija	4 (40,0%)	16 (18,6%)	0,209

VOI – varijante od interesa; AEL – antiepileptički lekovi; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); ETLE – ekstratemporalna epilepsija (eng. *extratemporal lobe epilepsy*)

Pregled kliničkih i demografskih karakteristika nosilaca VOI je dat u Tabela 39.

Tabela 39 Kliničke i demografske karakteristike nosilaca VOI

Pac.	Gen	Varijanta	Pol	Star.	Poč.	Porodična anamneza	Lob dg	Tip napada
1	DEPDC5	c.422_432del, p.Ala141ValfsTer3	Ž	29	4	Tetka po majci, sestričina, ujak i brat dede po majci su imali epilepsiju	D FLE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i senzornim (epigastričnim, psihičkim) početkom › motorni (hiperkinetički) napad
2	DEPDC5	c.1287+2T>G	Ž	38	21	Negativna	D PQE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti
3	NPRL2	c.197_198insAAT A, p.Cys67IlefsTer45	Ž	49	14	Sestra imala febrilne napade, sestra od tetke imala epilepsiju	L TLE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i autonomnim početkom › motorni (automotorni) napad
4	NPRL3	c.1495C>T, p.Leu499Phe	Ž	18	1	Brat od ujaka i deda po majci imaju epilepsiju	L TLE+	Fokalni napad sa očuvanom svešću i autonomnim početkom › bilateralni toničko-klonički napad
5	SCN1A	c.2123_2154dup, p.Ile719ProfsTer7	M	36	25	Sestra imala epilepsiju	D FLE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i motornim početkom (giratorni) napad
6	SCN1A	c.2123_2154dup, p.Ile719ProfsTer7	M	51	25	Baba po ocu ima epilepsiju	D TLE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i senzornim (epigastričnim, psihičkim) početkom › motorni (automotorni) napad
7	GRIN2A	c.3578T>G, p.Leu1193Trp	M	64	2	Unuk i unuka rođene sestre imaju epilepsiju	D TLE+	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i senzornim (autonomnim) početkom › motorni (automotorni) napad
8	GRIN2A	c.1586T>C, p.Val529Ala	Ž	42	34	Otac ima epilepsiju	D TLE+	Fokalni napad sa pomućenjem svesti
9	PCDH19	c.2417_2433dup, p.Asn812ProfsTer2	M	46	7	Otac imao jedan spontani epileptički napad	D FLE	Fokalni napad sa pomućenjem svesti i senzornim (bilateralni somatosenzornim) početkom › motorni (automotorni › klonički leva polovina lica) napad
10	PCDH19	c.2417_2433dup, p.Asn812ProfsTer2	M	19	17	Majka ima epilepsiju	NU	Fokalni sa pomućenjem svesti › bilateralni toničko-klonički napad

Pac. – pacijent; Star. – starost; Poč. – početak bolesti; M – muško; Ž – žensko; D – desno; L – levo; FLE – epilepsija frontalnog režnja (eng. *frontal lobe epilepsy*); PQE – epilepsija posteriornog kvadranta eng. *posterior quadradrant epilepsy*); TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); TLE+ – temporalna plus epilepsija (eng. *temporal lobe epilepsy plus*); NU – neutvrđena

Nastavak

Pac.	Najveća učestalost napada	Najduži period remisije	iiEEG	iEEG	MR	FDG-PET	Terapijski pokušaji
1	dnevno	Bez remisije	D frontotemporalni SPK F8/F4	Bilateralno frontalno	NL	Desno temporalno i desno frontalno	CBZ, VPA, LTG, TPM, LEV, CLN, CLO, PRM
2	nedeljno	2 godine	D temporo-posteriorni PSPK T6	D temporo-posteriorno	NL	Desno temporalno	PB, CBZ, VPA, LTG, LEV, PGB
3	nedeljno	Bez remisije	L temporalni SPK T1, retko D temporalni SPK T2	L temporalno	L HS	Levo temporalno	PB, PHT, CBZ, LEV, CLN, CLO
4	dnevno	6 meseci	L temporalni SW T1	L temporalno	L HS	Levo temporalno i levo insularno	CBZ, VPA, TPM, LEV, PGB, CLO, OXC, ZNS
5	nedeljno	11 meseci	D frontalni SPK F4 ili Fp2	D frontalno	NL	Desno temporalno , desno orbitofrontalno i desno insularno	VPA, LTG, LEV, PGB
6	nedeljno	2 meseca	D temporalni SPK T2 i levi temporalni SPK T1	Nelateralizovan	NL	Desno temporalno	PB, CBZ, VPA, LTG, TPM, LEV, PGB, CLN
7	<1/mesečno	3 meseca	D temporalni SPK T2	Nelateralizovan	D HS	Desno lateralno temporalno	PB, PHT, CBY, VPA, LTG, TPM, LEV, PGB, CLN, CLO, SLT
8	nedeljno	Bez remisije	L temporalni SPK T1	D temporalno	D HS	Bilateralno temporalno, levo insularno	LTG, TPM, LEV, CLO
9	<1/mesečno	Bez remisije	Uredan	D frontalno	NL	Desno frontopolarno, bilateralno temporalno	PB, CBZ, VPA, LTG, LEV
10	<1/mesečno	4 meseca	L temporo-posteriorni SW T5	NR	NL	desno temporalno, desno okcipitalno i desno frontalno operkularno	VPA, LEV

Pac. – pacijent; iiEEG – interiktalni EEG; iEEG – iktalni EEG; D – desno; L – levo; SPK – šiljak (eng. *spike*); PSPK – polišiljak (eng. *polyspike*); SW – oštri talas (eng. *sharp wave*); NR – nisu registrovani; NL – nelezioni; HS – hipokampalna skleroza; CBZ – karbamazepin; VPA – valproat; LTG – lamotrigin; TPM – topiramet; LEV – levacetam; CLN – klonazepam; CLO – klobazam; PRM – primidon; PB – fenobarbiton; PGB – pregabalin; PHT – fenitoin; OXC – okskarbazepin; ZNS – zonisamid; SLT – sultiam

#### 4.3.2.1 Subanaliza prinosa sekvenciranja i karakteristika nosilaca varijanti od interesa u genima definisanim u EPI4K studiji

Šest različitih VOI kod ukupno osam (8,3%) pacijenata je detektovano u genima definisanim u EPI4K studiji. Dve VOI u *DEPDC5*, registrovane kod ukupno dva (2,1%) pacijenta, jedna *SCN1A* VOI registrovana kod dva pacijenta (2,1%) i jedna *PCDH19* VOI registrovana kod dva (2,1%) pacijenta su klasifikovane kao verovatno patogene (Tabela 37). Po jedna VOI detektovana u *GRIN2A*, registrovana kod po jednog pacijenta (1,0%) je klasifikovana kao VUS i kao verovatno benigna varijanta. Nijedna VOI nije registrovana u *LGII* genu. Ukupan dijagnostički prinos ovako definisanog sekvenciranja je iznosio 6,2%.

Nije pronađena statistički značajna razlika u udelu nosilaca VOI između grupe pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom (10,7% vs. 3,2%,  $p = 0,201$ ), kao ni između grupe pacijenata sa lezionom i nelezionom NSFE (10,0% vs. 7,9%,  $p = 0,670$ ).

Nije registrovana statistički značajna razlika u demografskim i kliničkim karakteristikama nosilaca VOI u ovoj grupi gena u poređenju sa onima koji nisu nosioci VOI, izuzev u lobarnoj dijagnozi gde je među nosiocima varijanti bila statistički značajno češća dijagnoza ETLE, dok je kod onih koji nisu nosioci VOI češća dijagnoza bila TLE (Tabela 40).

Tabela 40 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u genima definisanim u EPI4K studiji

	Nosioci EPI4K VOI	Bez EPI4K VOI	<i>p</i>
N (%)	8 (8,3)	88 (91,7)	
Starost [godine]	40,6±13,7 ( $\bar{x} \pm SD$ )	36,1±10,6 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,323
Starost na početku epilepsije [godine]	16,9±11,5 ( $\bar{x} \pm SD$ )	14,1±10,1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,418
Trajanje epilepsije [godine]	23,8±19,4 ( $\bar{x} \pm SD$ )	22,0±13,2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,995
Pol (muški/ženski)	5/3 (62,5%/37,5%)	46/42 (52,3%/47,7%)	0,719
Broj isprobanih AEL	6,0±2,9 ( $\bar{x} \pm SD$ )	5,1±2,1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,465
Febrilni napadi	0 (0,0%)	17 (19,3%)	0,343
Minor povreda glave	2 (25,0%)	13 (14,8%)	0,607
Fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade	4 (50,0%)	43 (48,9%)	1,000
Klasteri napada	3 (37,5%)	28 (31,8%)	0,710
Epileptički status	1 (12,5%)	7 (8,0%)	0,515
Lobarna dijagnoza (TLE/ETLE)	2/5 (25,0%/62,5%)	41/17 (46,6%/19,3%)	<b>0,020</b>
Lezija	2 (25,0%)	18 (20,5%)	0,670

VOI – varijante od interesa; AEL – antiepileptički lekovi; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); ETLE – ekstratemporalna epilepsija (eng. *extratemporal lobe epilepsy*)

#### 4.3.2.2 Varijante od interesa u genima GATOR1 kompleksa

Četiri različite VOI su registrovane kod ukupno četiri pacijenta (4,2%) u ispitivanoj grupi pacijenata. Nijedna od četiri VOI nisu prethodno registrovane niti prijavljene u bazi ClinVar ili GnomAD (Tabela 37).

Dve VOI su nađene u genu *DEPDC5*. Varijanta *DEPDC5* c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3 je delecija 11 nukleotida sa izmenom okvira čitanja (*frameshift* varijanta) sa posledičnim prevremenim terminacionim kodonom. Lokalizovana je u egzonu osam *DEPDC5* gena koji korespondira N-terminalnom domenu (NTD) proteinskog produkta. Varijanta *DEPDC5* c.1287+2T>G je SNV

lokalizovana u donorskom regionu splajsinga introna 18 *DEPDC5* gena sa visokim SpliceAI skorom od 1,0, što sugerise veliku verovatnoću poremećaja splajsinga usled postojanja ove varijante. Obe su klasifikovane kao verovatno patogene (Tabela 37).

Jedna insercija od pet nukleotida je registrovana u egzonu tri *NPRL2* gena (c.197\_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45), što odgovara Longin domenu proteinskog produkta i dovodi do izmene okvira čitanja (*frameshift* varijanta) i nastanka prevremenog terminacionog kodona. S obzirom na kratku dužinu insertovanog fragmenta, on nije pretraživan u BLAST-u. Klasifikovana je kao verovatno patogena. Detektovana je i jedna SNV *missense* varijanta u egzonu 13 *NRPL3* gena (c.1495C>T, p.Leu499Phe) koja odgovara INT domenu proteinskog produkta i dovodi do nekonzervativne aminokiselinske supstitucije iz aromatične u alifatičnu. Ona je anotirana kao „D“ od strane MetaRNN, ali je imala REVEL skor manji od 0,5 i CADD skor manji od 30, te je klasifikovana kao VUS (Tabela 37).

Tri različite varijante (jedna *frameshift* i jedna splajsogena varijanta u *DEPDC5* i jedna *frameshift* varijanta u *NPRL2*) kod ukupno tri pacijenata su klasifikovane kao verovatno patogene, te je ukupan dijagnostički prinos sekvenciranja GATOR1 gena u ispitivanoj grupi pacijenata bio 3.1%. Samo jedna *missense* varijanta je klasifikovana kao VUS kod jednog pacijenta (1,1%). Nijedna varijanta od interesa u GATOR1 genima nije kategorisana kao za benigna ili verovatno benigna varijanta. Nije registrovana razlika u udelu nosilaca VOI između grupe pacijenta sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom (4,6% vs. 3,2%,  $p = 1,00$ ) kao ni između grupe pacijenata sa lezionom ili nelezionom NSFE (10,0% vs. 2,6%,  $p = 0,191$ ).

#### 4.3.2.2.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u genima GATOR1 kompleksa

Nosioci GATOR1 VOI su češće bili ženskog pola i češće bolovali od ekstratemporalne epilepsije u poređenju sa pacijentima bez GATOR1 VOI, dok se nisu značajno razlikovali po starosti, starosti na početku epilepsije, trajanju epilepsije, broju isprobanih AEL, učestalosti febrilnih napada, manja povreda glave, pojave fokalnih napada sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, klastera napada, epileptičkog statusa ili prisustva epileptogene lezije (Tabela 41).

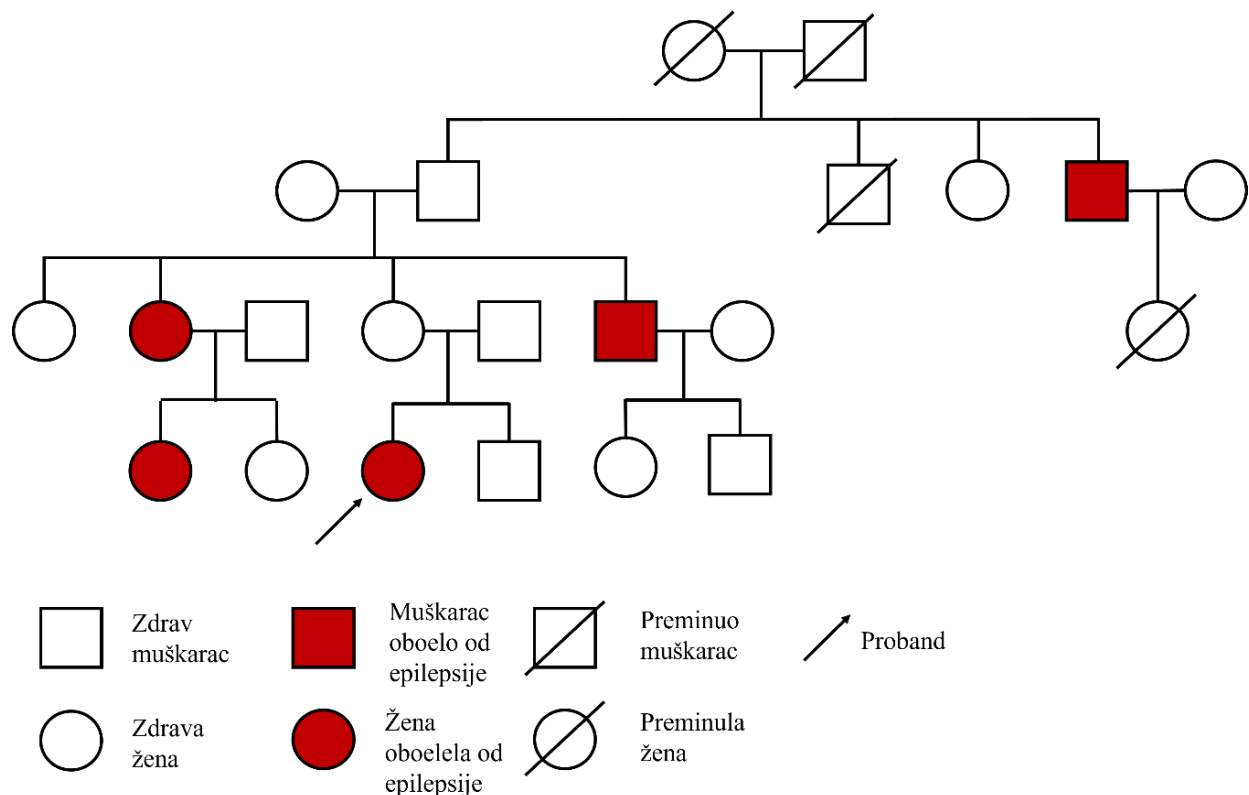
Tabela 41 Karakteristike nosilaca GATOR1 VOI

	Nosioci GATOR1 VOI	Bez GATOR1 VOI	<i>p</i>
N (%)	4 (4,1)	92 (95,8)	
Starost [godine]	32,2±15,2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	36,6±10,8 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,665
Starost na početku epilepsije [godine]	10,0±9,2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	14,5±10,3 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,419
Trajanje epilepsije [godine]	22,2±10,0 ( $\bar{x} \pm SD$ )	22,1±13,9 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,811
Pol (muški/ženski)	0/4 (0,0%/100,0%)	51/41 (55,4%/44,6%)	<b>0,045</b>
Broj isprobanih AEL	7,0±1,2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	5,1±2,1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,053
Febrilni napadi	2 (50,0%)	15 (15,6%)	0,143
Minor povreda glave	1 (25,0%)	14 (15,2%)	0,499
Fokalni napadi sa evolucijom u bilateralne TKN	1 (25,0%)	46 (50,0%)	0,617
Klasteri napada	2 (50,0%)	29 (31,5%)	0,592
Epileptički status	0 (0,0%)	8 (8,7%)	1,000
Lobarna dijagnoza (TLE/ETLE)	1/3 (25,0%/75,0%)	42/19 (45,7%/20,7%)	<b>0,036</b>
Lezija	2 (50,0%)	18 (19,6%)	0,191

VOI – varijante od interesa; AEL – antiepileptički lekovi; TKN – toničko-klonički napadi; TLE – epilepsija temporalnog režnja (eng. *temporal lobe epilepsy*); ETLE – ekstratemporalna epilepsija (eng. *extratemporal lobe epilepsy*)

#### 4.3.2.2.1.1 Varijanta *DEPDC5* c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3

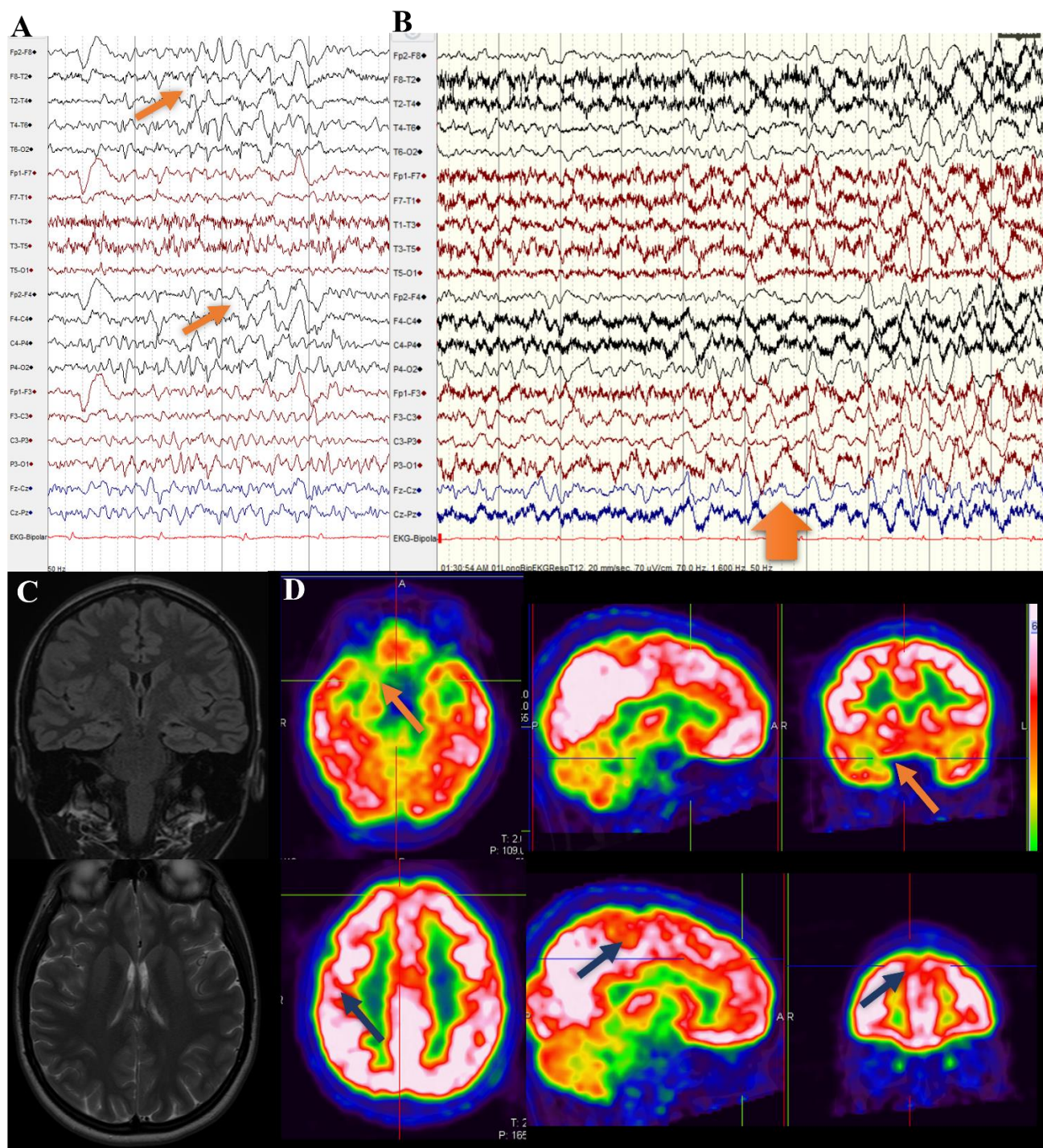
Ova varijanta je detektovana je kod pacijentkinje 1 (29, Ž) koja je u inicijalnom skriningu označena kao obolela od nelezionne fokalne epilepsije sa negativnom porodičnom anamnezom usled prisustva epilepsije kod srodnika daljeg od III stepena srodstva. Po naknadnom ispitivanju pri poseti radi uzorkovanja materijala utvrđeno je da pacijentkinja ima više obolelih srodnika, od kojih su dva najbliža u II stepenu srodstva (Slika 55). Od epilepsije je obolela sa 4 godine starosti, čemu je prethodila manja povreda glave bez gubitka svesti. Napadi u početku bolesti su počinjali i iz budnosti i iz spavanja, dok poslednjih godina ima samo napade iz spavanja. Napadi počinju sa epigastričnom senzacijom ili strahom koji je potom praćen hiperkinetičkim motornim napadom. Napadi se javljaju gotovo svake noći, često u klasterima. Do sada je lečena pomoću 8 različitih AEL uz koju nije bilo dužih perioda remisije (Tabela 39).



Slika 55 Rodoslov pacijentkinje 1, nosioca *DEPDC5* c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3

Tokom VEM je registrovano obilje interiktalnih šiljaka sa maksimumom nad F8 ili F4 elektrodom, kao i 6 habitualnih epileptičkih napada iz spavanja sa nelateralizovanim iktalnim EEG početkom sa bifrontalnim maksimumom (Slika 56). MR mozga od 3 T sa 3D FLAIR sekvencom je bio uredan, dok je FDG-PET mozga pokazao hipometabolizam glukoze u desnom temporalnom i desnom paracentralnom regionu koji sugeriše FCD. Postavljena joj je dijagnoza nelezionne FLE. Implantiran joj je VNS 2019. godine uz koji se održavaju napadi više puta nedeljno uprkos primeni četiri AEL.

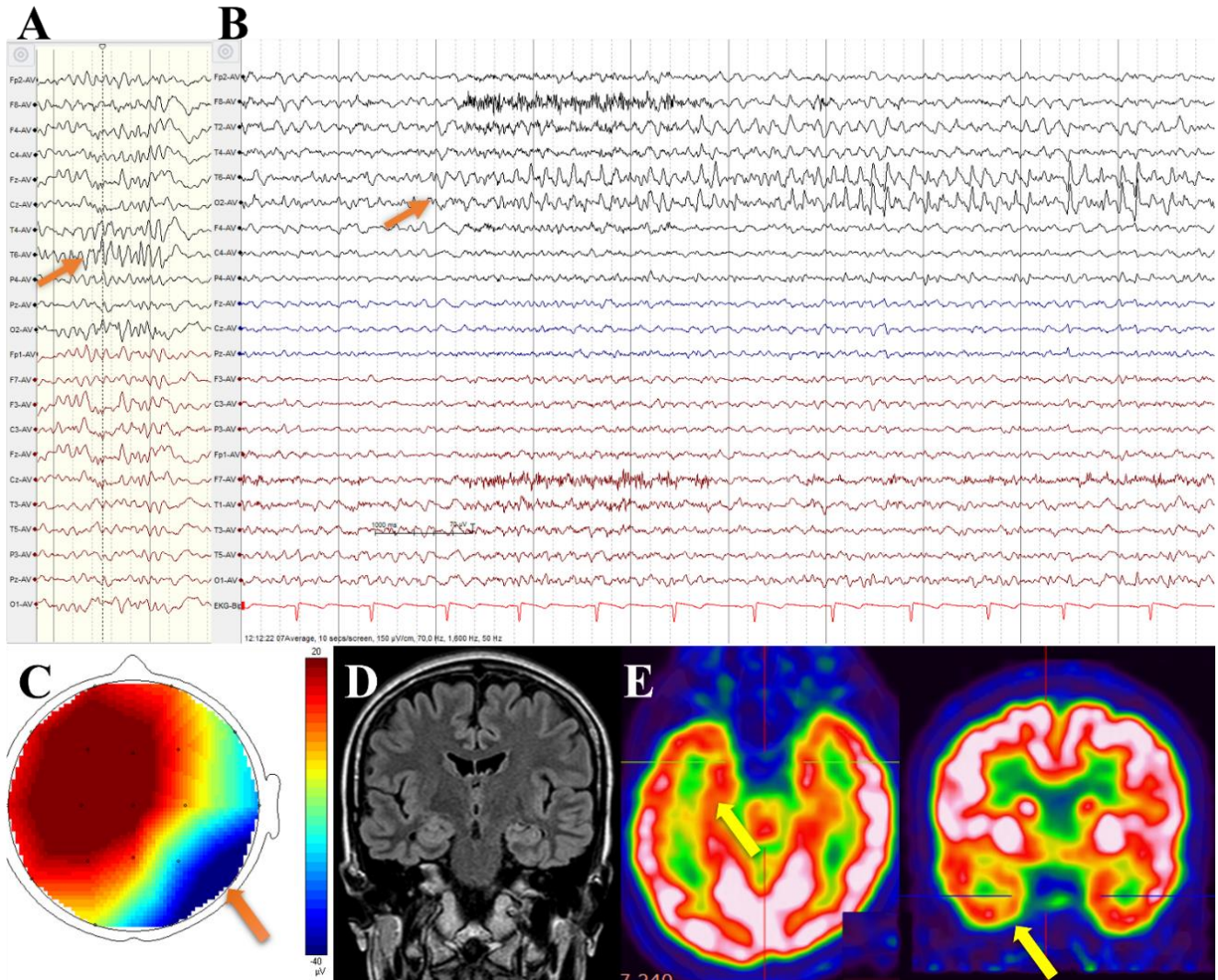




Slika 56 Dijagnostički nalazi kod pacijentkinje 1: A interiktalni EEG – šiljak desno frontalno sa maksimumom na F4/F8 elektrodama u longitudinalnoj bipolarnoj montaži (strelica); B iktalni EEG – početak nad oba frontalna regiona u longitudinalnoj bipolarnoj montaži (strelica); C MR mozga – uredan; D FDG-PET mozga – hipometabolizam glukoze mezijotemporalno desno (narandžasta strelica) i pericentralno desno (plava strelica)

#### 4.3.2.2.1.2 Varijanta *DEPDC5* c.1287+2T>G

Ova varijanta je pronađena kod pacijentkinje 2 (38, Ž) koja ima negativnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, jedan spontani epileptički napad ili febrilne napade i nema prethodne faktore rizika za nastanak epilepsije.



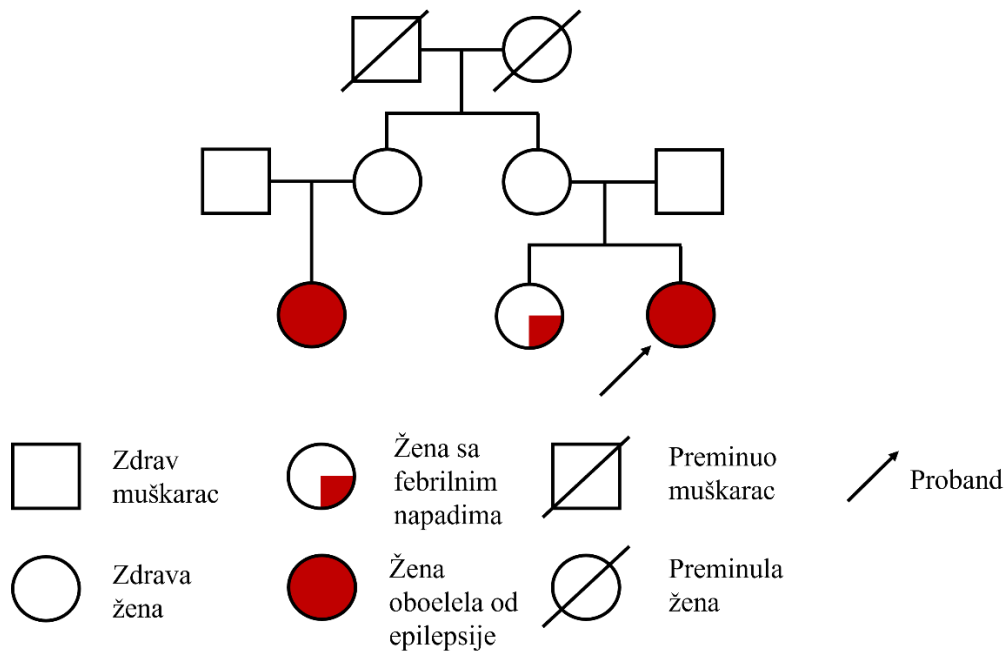
Slika 57 Dijagnostički nalazi kod pacijentkinje 2: A interiktalni EEG – polišiljci levo temporoposteriorno sa maksimumom na T6 elektrodi u referentnoj montaži prema AV elektrodi (strelica); B iktalni EEG – početak nad desnim temporoposteriornim regionom u referentnoj montaži prema AV elektrodi (strelica); C izopotencijalna mapa interiktalnog nalaza sa maksimumom nad desnim temporoposteriornim regionom; D MR mozga – uredan; E FDG-PET mozga – hipometabolizam glukoze temporalno desno (strelica)

Boluje od komorbidne depresije, anksioznosti i narcističkog poremećaja ličnosti. Početak epilepsije je bio u uzrastu od 21 godine. Ima fokalne napade sa pomućenjem svesti iz budnosti koji su se tokom najfloridnijeg perioda bolesti javljali više puta nedeljno uprkos terapijskim pokušajima sa 6 AEL, ali je imala privremenu remisiju u trajanju od dve godine nakon uvođenja fenobarbitona. Povremeno (ređe od jednom godišnje) ima i napade sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade (Tabela 39).

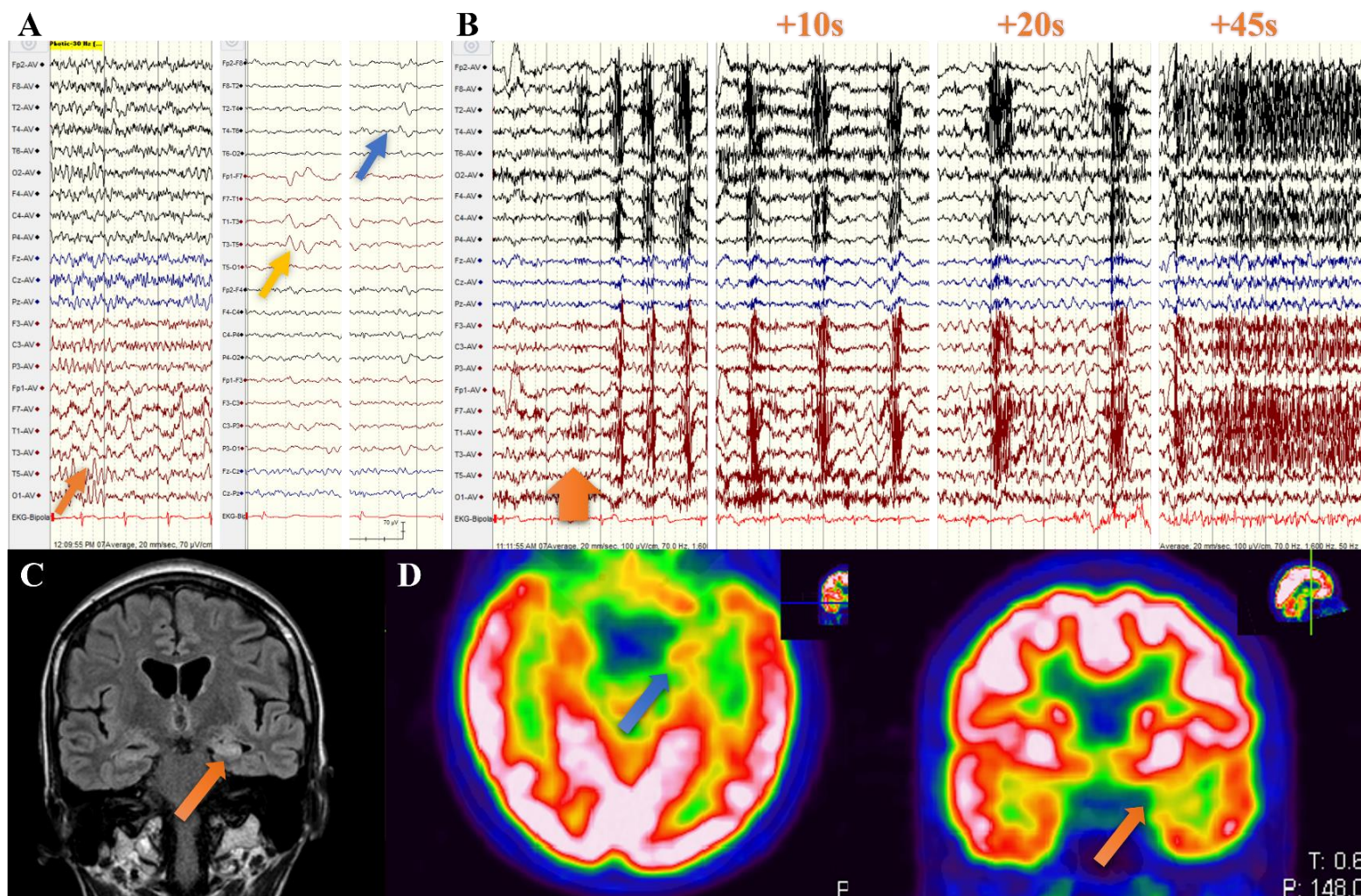
Tokom VEM su registrovani polišiljci sa maksimumom nad T6 i O2 elektrodama kao i dva habitualna epileptička sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade napada i iktalnim ritmom u vidu repetitivnih šiljaka sa maksimumom nad T6 elektrodom. Na MR snimku od 1,5 T nije registrovana epileptogena lezija dok je FDG-PET mozga registrovao hipometabolizam desnog temporalnog režnja (Slika 57). Postavljena joj je dijagnoza epilepsije desnog posteriornog kvadranta. Pacijentkinja ima napade više puta mesečno uz primenu dva AEL.

#### 4.3.2.2.1.3 Varijanta NPRL2 c.197\_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45

Ova varijanta je detektovana kod pacijentkinje 3 (49, Ž). Njena starija sestra je imala febrilne napade, a sestra od tetke po majci je lečena zbog epilepsije u detinjstvu (Slika 58). Pacijentkinja je imala febrilne napade dok je bila odojče. Početak epilepsije je bio sa 14 godina života sa više napada nedeljno tokom najfloridnijeg perioda bolesti. Napadi su počinjali autonomnom simptomima u vidu srčanih palpitacija, neprijatnosti u abdomenu i povišenog arterijskog pritiska potom sa evolucijom u automotorne napade. Nije imala dužih perioda remisije uprkos izmeni 6 različitih AEL (Tabela 39).



Slika 58 Rodoslov pacijentkinje 3, nosioca NPRL2 c.197\_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45

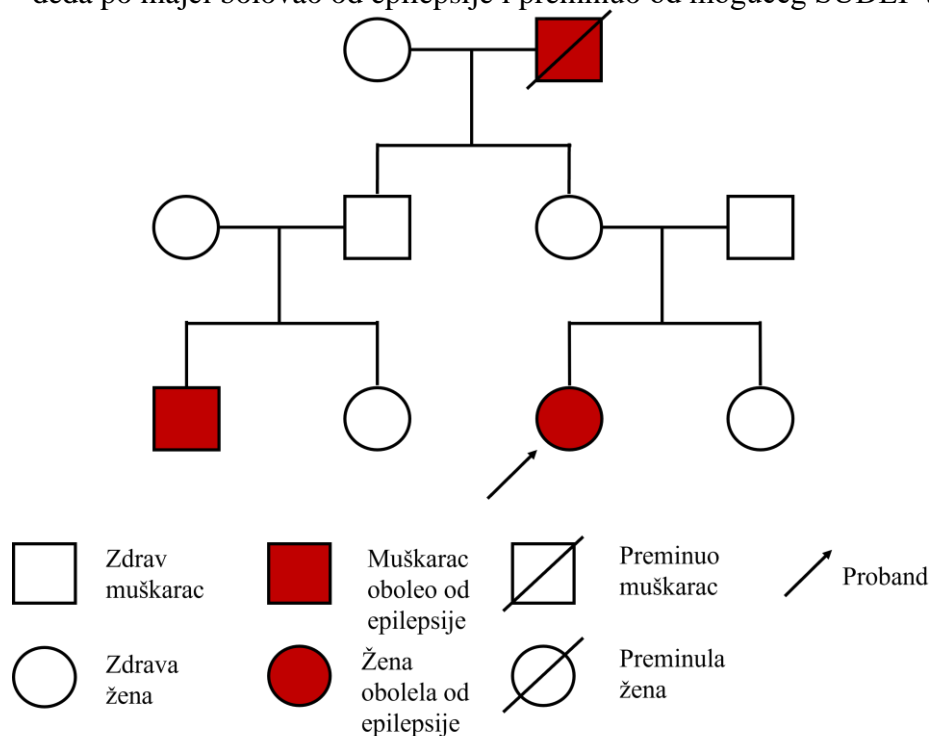


Slika 59 Dijagnostički nalazi kod pacijentkinje 3: A interiktalni EEG – temporalna intermitentna ritmična delta levo u referentnoj montaži prema AV elektrodi (narandžasta strelica), oštar talas levo temporalno sa maksimumom na T1 elektrodi, 80% interiktalnog pražnjenja (žuta strelica), oštar talas desno temporalno sa maksimumom na T2 elektrodi, 20% interiktalnog pražnjenja (plava strelica) u bipolarnoj longitudinalnoj montaži; B iktalni EEG – početak levo temporalno (strelica), evolucija u ritmičnu temporalnu tetu (+20s) i generalizacija (+40s) u referentnoj montaži prema AV elektrodi; C MR mozga – HS levo u FLAIR sekvenci (strelica); D FDG-PET mozga – hipometabolizam glukoze mezijotemporalno levo (strelica)

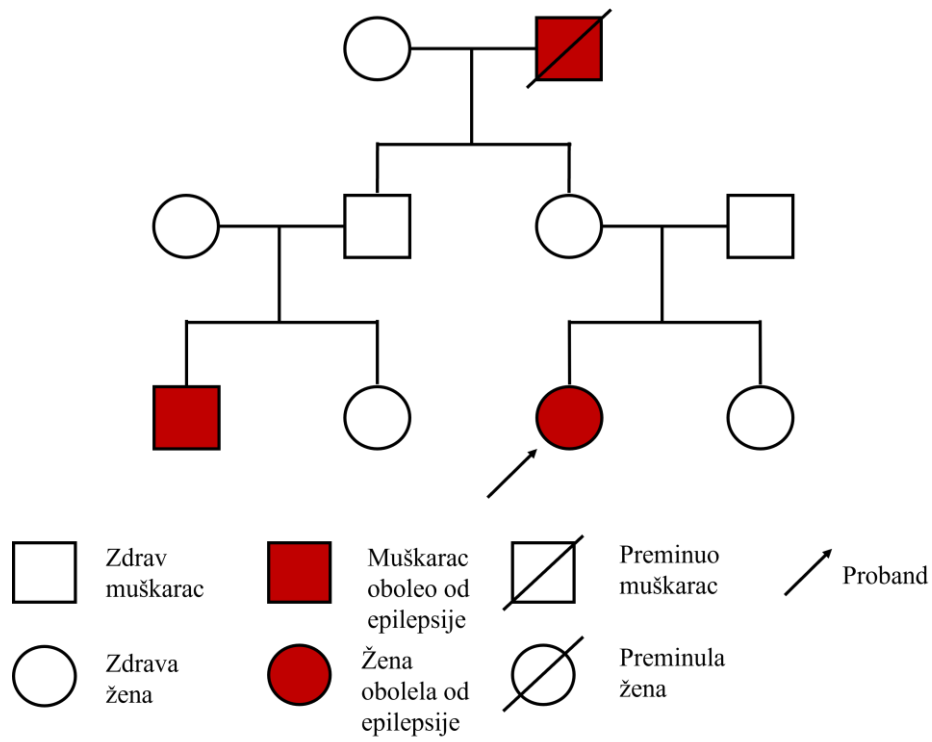
Tokom VEM su registrovane dve interiktalne populacije. Dominantna populacija šiljaka (>80% ukupnog interiktalnog pražnjenja) je imala maksimum nad T1 elektrodom i druga (<20% ukupnog interiktalnog pražnjenja) je imala maksimum nad T2 elektrodom. Osim opisane epileptiformne aktivnosti, registrovana je i interiktalna neepileptiformna aktivnosti u vidu temporalne intermitentne delta aktivnosti (TIRDA). Registrovana su tri habitualna epileptička napada sa iktalnim ritmom u vidu ritmične tete nad levim temporalnim regionom. Periiktalni kognitivni skrining je pokazao deficit verbalne memorije. MR snimak od 1,5 T je pokazao sklerozu levog hipokampusa (Slika 59). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da pacijentkinja boluje od levostrane temporalne epilepsije udružene sa sklerozom levog hipokampusa, kao i da je dobar kandidat za hirurško lečenje epilepsije. Savetovana je anteriorna temporalna lobektomija sa amigdalohipokampektomijom koja je sprovedena 2019. godine. Postoperativnom patohistološkom analizom je potvrđena HS. Pacijentkinja je od operacije BN sa četiri AEL.

#### 4.3.2.2.1.4 Varijanta *NPRL3* c.1495C>T, p.Leu499Phe

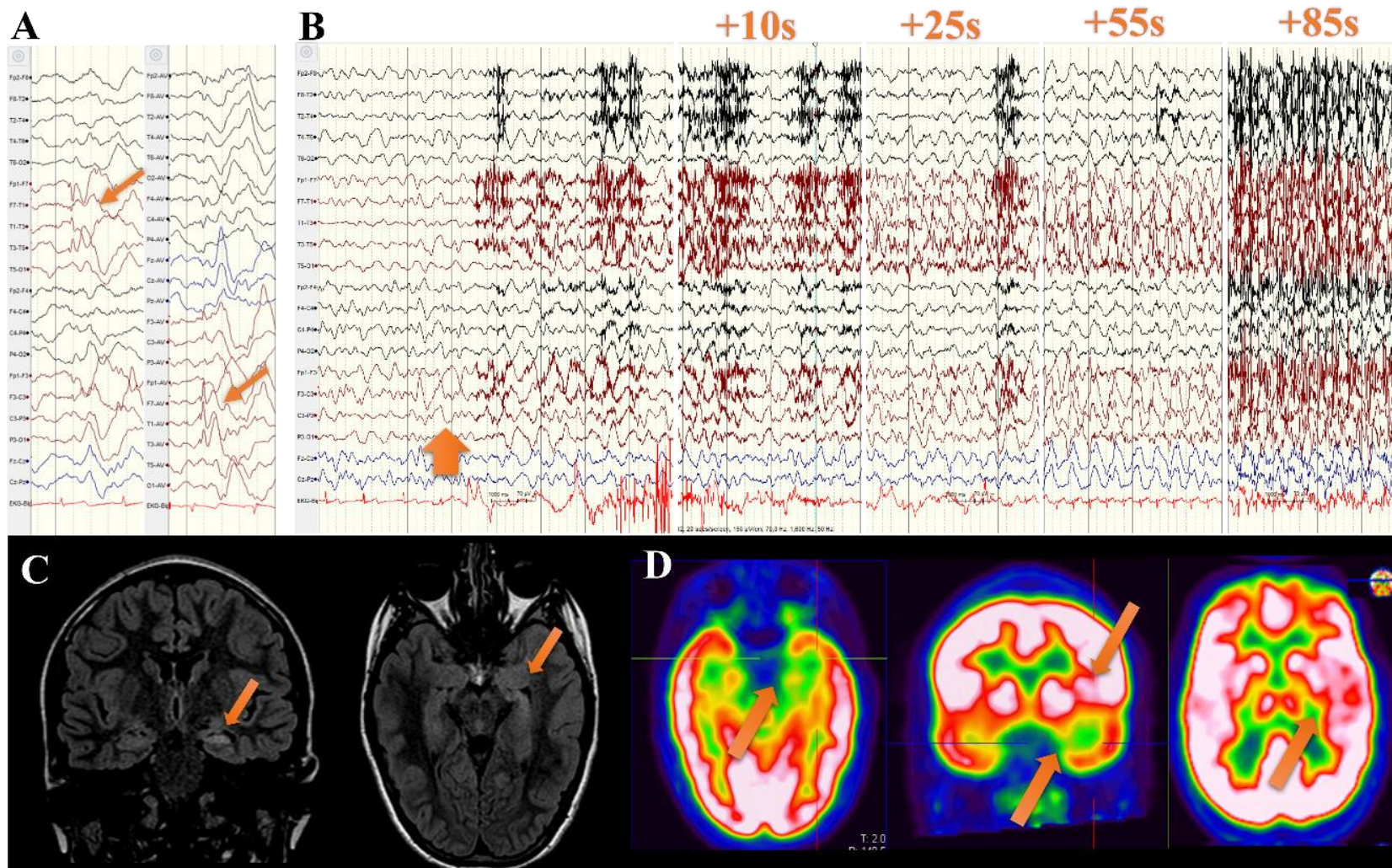
Jedini nosilac ove varijante je pacijentkinja 4 (18, F) čiji brat od ujaka boluje od epilepsije i čiji je deda po majci bolovao od epilepsije i preminuo od mogućeg SUDEP-a (



Slika 60). Epilepsija počinje u prvoj godini života sa febrilnim, a potom i afebrilnim napadima koji se javljaju i u budnosti i u spavanju. Napad počinje osećajem stezanja u guši koji je praćen strahom, srčanim palpitacijama, nagonom na povraćanje, potom joj pocrveni desna polovina lica i ima nagon da pljune, potom nastupa pomućenje svesti sa oroalimentarnim automatizmima. Tokom najfloridnijeg perioda bolesti, napadi se javljaju svakodnevno, ponekad po više puta dnevno. Imala je oko 10 napada sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, tipično provocirane febrilnošću. Najduži period remisije tokom lečenja je bio 6 meseci, uprkos primeni 8 AEL (Tabela 39).



Slika 60 Rodoslov pacijentkinje 4, nosioca varijante NPRL3 c.1495C>T, p.Leu499Phe



Slika 61 Dijagnostički nalazi kod pacijentkinje 4: A interiktalni EEG – oštar talas levo temporalno sa maksimumom na T1 elektrodi u longitudinalnoj bipolarnoj i referentnoj montaži prema AV elektrodi (strelica); B iktalni EEG – početak nad levim temporalnim regionom (strelica) i generalizacija (+85s) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; C MR mozga – HS levo u FLAIR sekvenci (strelica); D FDG-PET mozga – hipometabolizam mezijotemporalno i insularno levo (strelica)

Tokom VEM su registrovani oštri talasi nad levim temporalnim regionom sa maksimumom na T1 elektrodi, kao i 3 habitualna napada od kojih jedan sa evolucijom u bilateralni toničko-klonički napad (Slika 61). Periiktalnim kognitivnim skriningom je verifikovano oštećenje verbalne memorije. Iktalni ritam je zabeležen nad levim temporalnim regionom. MR od 1,5 T je pokazao levu HS dok je FDG-PET mozga registrovao hipometabolizam glukoze u levom temporalnom i levom insularnom regionu. Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da se radi o levoj epilepsiji temporalnog režnja plus udruženoj sa levom HS. Ima perzistentne napade uprkos primeni tri AEL.

#### 4.3.2.3 Varijante od interesa u SCNIA genu

Detektovana je jedna SCNIA VOI (c.2123\_2154dup, p.Ile719ProfsTer7), koja nije prethodno registrovana i nije pronađena u ClinVar ili GnomAD bazama, kao ni srpskoj bazi varioma (Tabela 37). U pitanju je insercija 32 nukleotida sa posledičnom izmenom okvira čitanja (*frameshift* varijanta) i prevremenim terminacionim kodonom. Lokalizovana je u egzonu 15 i korespondira D-linkeru između D1 i D2 transmembranskog domena Nav1.1 (Slika 82). Pretragom u BLAST je nađeno da odgovara sekvenciji u blizini mesta insercije što je čini manjom lokalnom duplikacijom. Klasifikovana je kao verovatno patogena.

##### 4.3.2.3.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u SCNIA genu

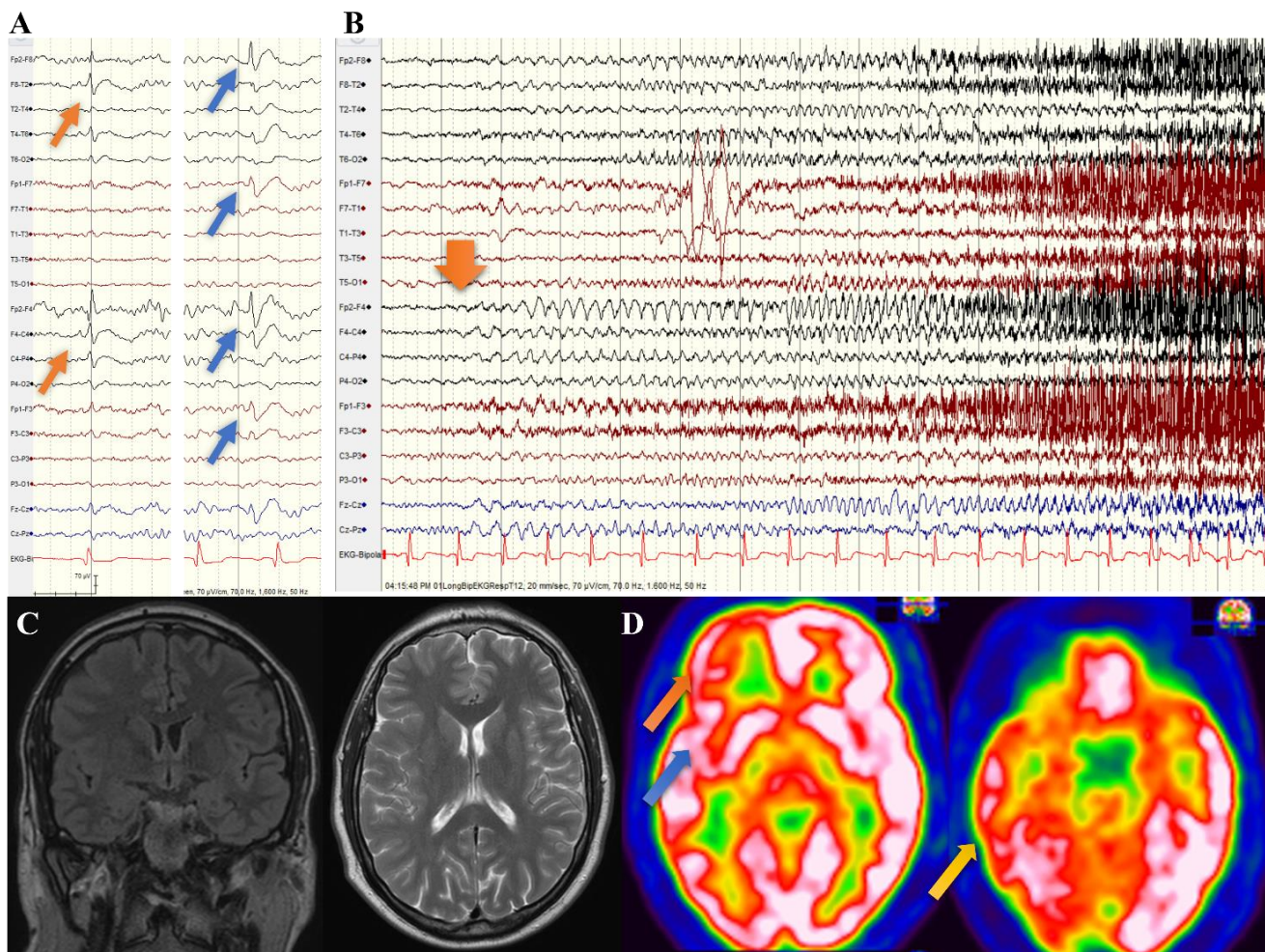
###### 4.3.2.3.1.1 Varijanta SCNIA c.2123\_2154dup, p.Ile719ProfsTer7

Varijanta SCNIA c.2123\_2154dup, p.Ile719ProfsTer7 je pronađena kod dva pacijenta u ispitivanoj grupi pacijenata (2,1%).

Pacijent 5 (36, M) ima rođenu sestru koja je bolovala od epilepsije do svoje 12. godine i koja je bez terapije od svoje 18. godine. Pacijent je prvi napad imao sa 25 godina. Napadi su giratorni motorni napadi sa pomućenjem svesti i okretanjem prvo pogleda, potom glave i tela u levo koji se javljaju i iz budnosti i iz spavanja. Ovakvi napadi su se tokom najfloridnijeg perioda bolesti javljali preko tri puta nedeljno dok su se napadi sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade javljali dva do četiri puta mesečno. Imao je epileptički status sa 30 godina koji je bio precipitiran infektivnom epizodom i febrilnošću. Lečen je sa četiri AEL, uprkos čemu se napadi održavaju. Najduži period remisije koji je imao u toku bolesti je trajao 11 meseci (Tabela 39).

Tokom VEM registrovane su dve interiktalne populacije, jedna nad desnim frontalnim regionom sa maksimumom nad F4 elektrodom (50% interiktalnog pražnjenja) i druga bifrontalno sa maksimumom nad Fp2 elektrodom (50% interiktalnog pražnjenja), kao i četiri habitualna napada sa početkom nad desnim frontalnim regionom. MR mozga na aparatu od 1,5 T je bio normalan, dok je FDG-PET mozga pokazao hipometabolizam glukoze u desnom orbitofrontalnom, insularnom i temporalnom regionu (Slika 62). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da se radi o nelezionoj epilepsiji desnog frontalnog režnja.

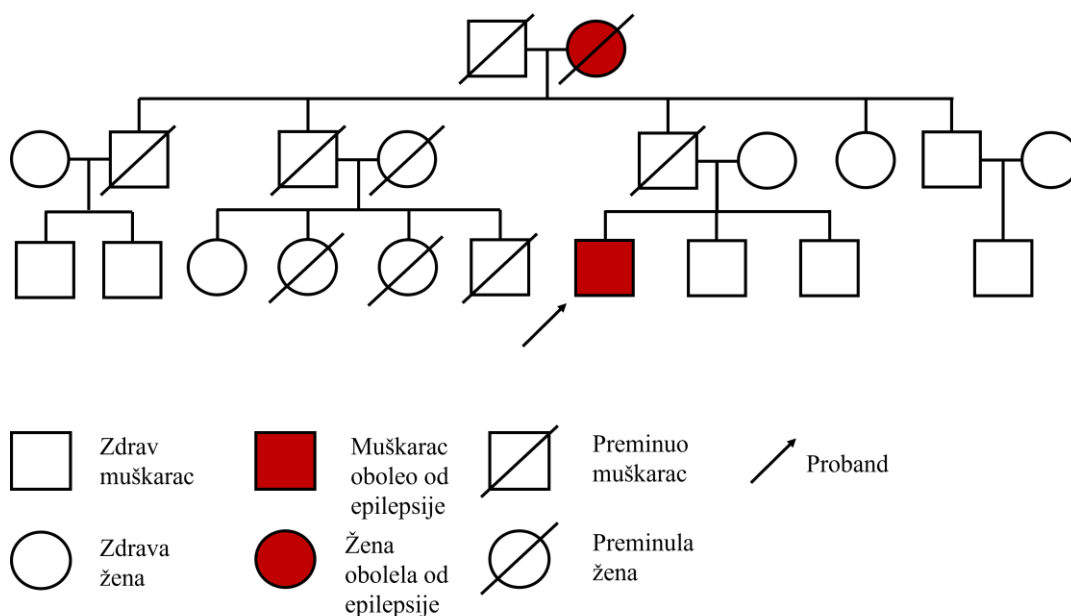




Slika 62 Dijagnostički nalazi kod pacijenta 5: A interiktalni EEG – šiljak desno frontalno na F4 elektrodi (narandžasta strelica) i bifrontalno na Fp2 elektrodi (plava strelica) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; B iktalni EEG – početak nad desnim frontalnim regionom (strelica) i generalizacijom (+15s) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; C MR mozga – uredan; D FDG-PET mozga – hipometabolizam desno orbitofrontalno (narandžasta strelica), desno insularno (plava strelica) i desno temporalno (narandžasta strelica)

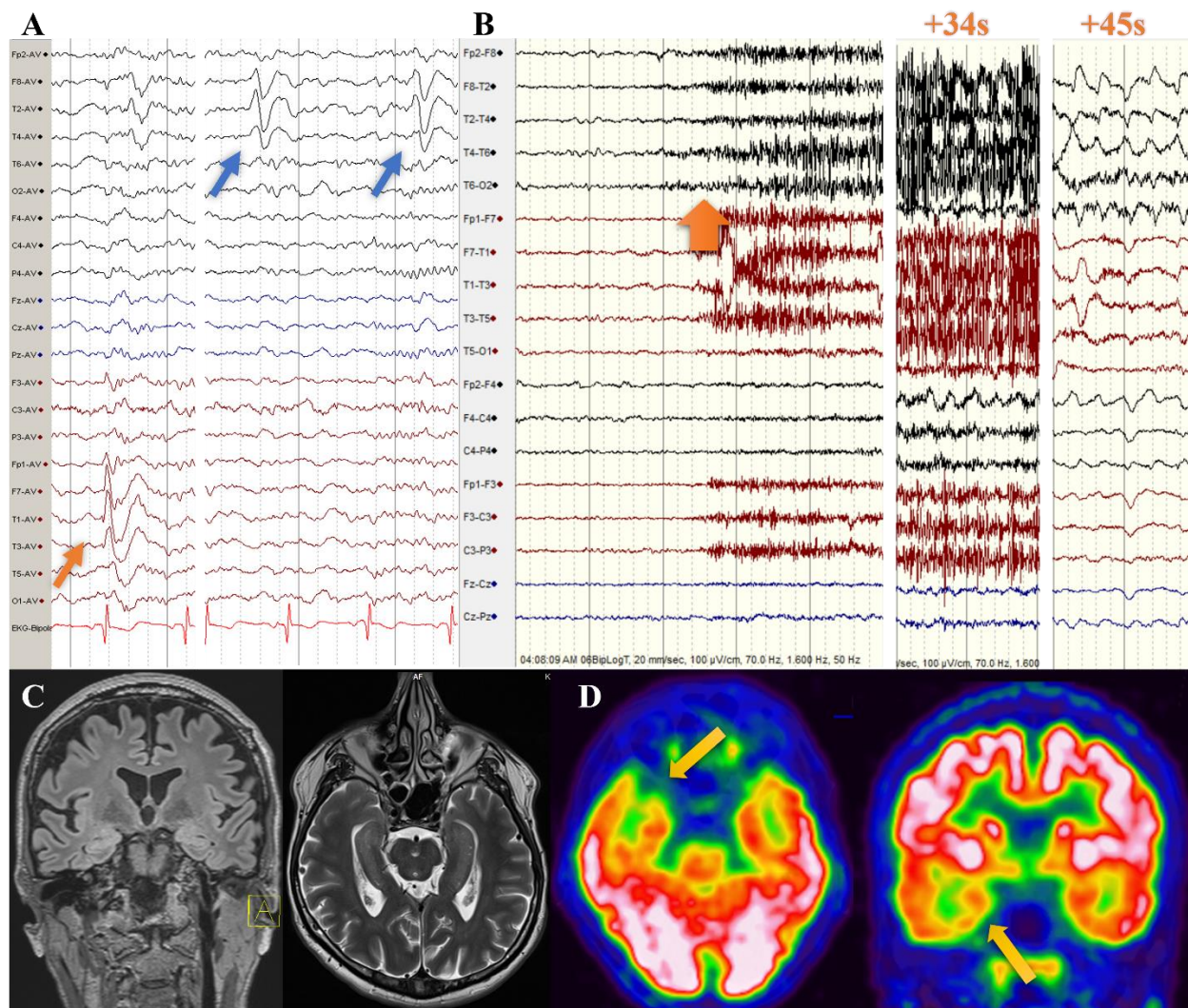
Drugi nosilac ove varijante je pacijent 6 (51, M) koji je imao babu po ocu obolelu od epilepsije, pored koje je proband jedini član porodice oboleo od epilepsije (Slika 63).

Boluje od epilepsije od svoje 25. godine sa komorbidnom depresijom i esencijalnim tremorom. Napadi se javljaju i u budnosti i u spavanju i počinju senzornim epigastričnim ili dismnestičkim napadom koji dalje evoluiru u motorni napad sa bimanuelnim automatizmima i pomućenjem svesti. Javljaju se svake nedelje, obično sa klasterima do 4 napada u toku dana. Neuspešno je lečen pomoću 8 AEL (Tabela 39).



Slika 63 Rodoslov pacijenta 6, nosioca varijante *SCN1A* c.2123\_2154dup, p.Ile719ProfsTer7

Tokom VEM registrovane su dve interiktalne populacije, jedna nad desnim temporalnim regionom sa maksimumom nad T2 elektrodom (70% interiktalnog pražnjenja) i druga nad levim temporalnim regionom sa maksimumom nad T1 elektrodom (30% interiktalnog pražnjenja), kao i četiri habitualna epileptička napada sa početkom nad desnim temporalnim regionom. MR mozga na aparatu 3 T sa 3D FLAIR je pokazao kortiko-subkortikalne reduktivne promene bez vidljive epileptogene lezije. FDG-PET mozga je pokazao hipometabolizam glukoze temporalno desno (Slika 64). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da se radi o nelezionoj epilepsiji desnog temporalnog režnja. Ima perzistentne napade uprkos primeni četiri AEL.



Slika 64 Dijagnostički nalazi kod pacijenta 6: A interiktalni EEG – šiljak levo temporalno na T1 elektrodi, 70% interiktalnog pražnjenja (narandžasta strelica) i šiljak desno temporalno na T2 elektrodi, 30% interiktalnog pražnjenja (plava strelica) u referentnoj montaži prema AV elektrodi; B iktalni EEG – početak nad desnim temporalnim regionom (strelica) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; C MR mozga – uredan; D FDG-PET mozga – hipometabolizam desno temporalno (strelica)

#### 4.3.2.4 Varijante od interesa u *GRIN2A* genu

Dve *GRIN2A* VOI su detektovane u ispitivanoj grupi pacijenata (Tabela 37). Prva (c.3578T>G, p.Leu1193Trp) je *missense* SNV locirana u egzonu 14 *GRIN2A* gena koja korespondira C-terminalnom domenu (CTD) GluN2A (Tabela 37). Dovodi do nekonzervativne aminokiselinske supstitucije iz aromatične u alifatičnu aminokiselinu. Ova varijanta je prethodno prijavljena u ClinVar kao verovatno benigna od strane više izvora, i kao VUS od strane jednog izvora. Njen MAF u GnomAD bazi je 0.0001, ali nije detektovana u srpskom variomu. Ima CADD skor manji od 30, anotirana je kao „T“ od strane MetaRNN i ima REVEL skor manji od 0,5. Uzevši sve navedeno u obzir, klasifikovana je kao verovatno benigna.

Druga varijanta registrovana u ispitivanoj grupi pacijenata (c.1586T>C, p.Val529Ala) je *missense* SNV koja prethodno nije zabeležena u ClinVar, GnomAD ili srpskoj bazi varioma.

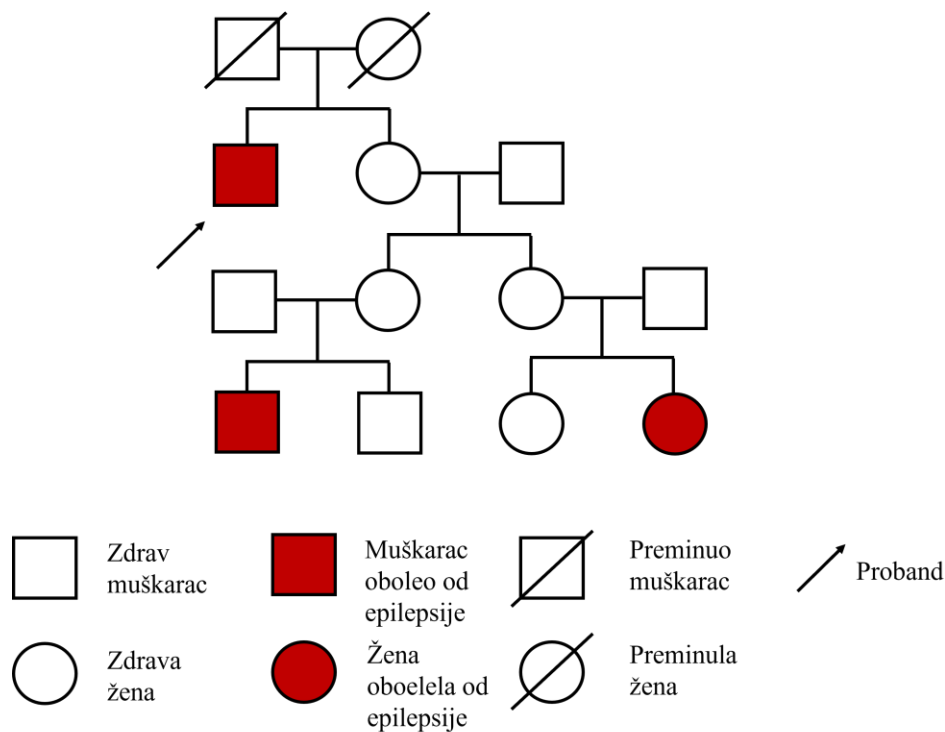
Lokalizovana je u egzonu sedam koja korespondira S1 domenu proteinskog produkta i dovodi do konzervativne aminokiselinske supstitucije iz jedne u drugu alifatičnu aminokiselinu (Tabela 37). Anotirana je kao „D“ pomoću MetaRNN, dok joj je CADD skor bio manji od 30 i REVEL manji od 0,5. Klasifikovana je kao VUS.

#### 4.3.2.4.1 Karakteristike nosilaca varijanti od interesa u *GRIN2A* genu

Varijante u *GRIN2A* genu su detektovane kod ukupno 2 pacijenta u ispitivanoj grupi pacijenata (2,1%).

##### 4.3.2.4.1.1 Varijanta *GRIN2A* c.3578T>G, p.Leu1193Trp

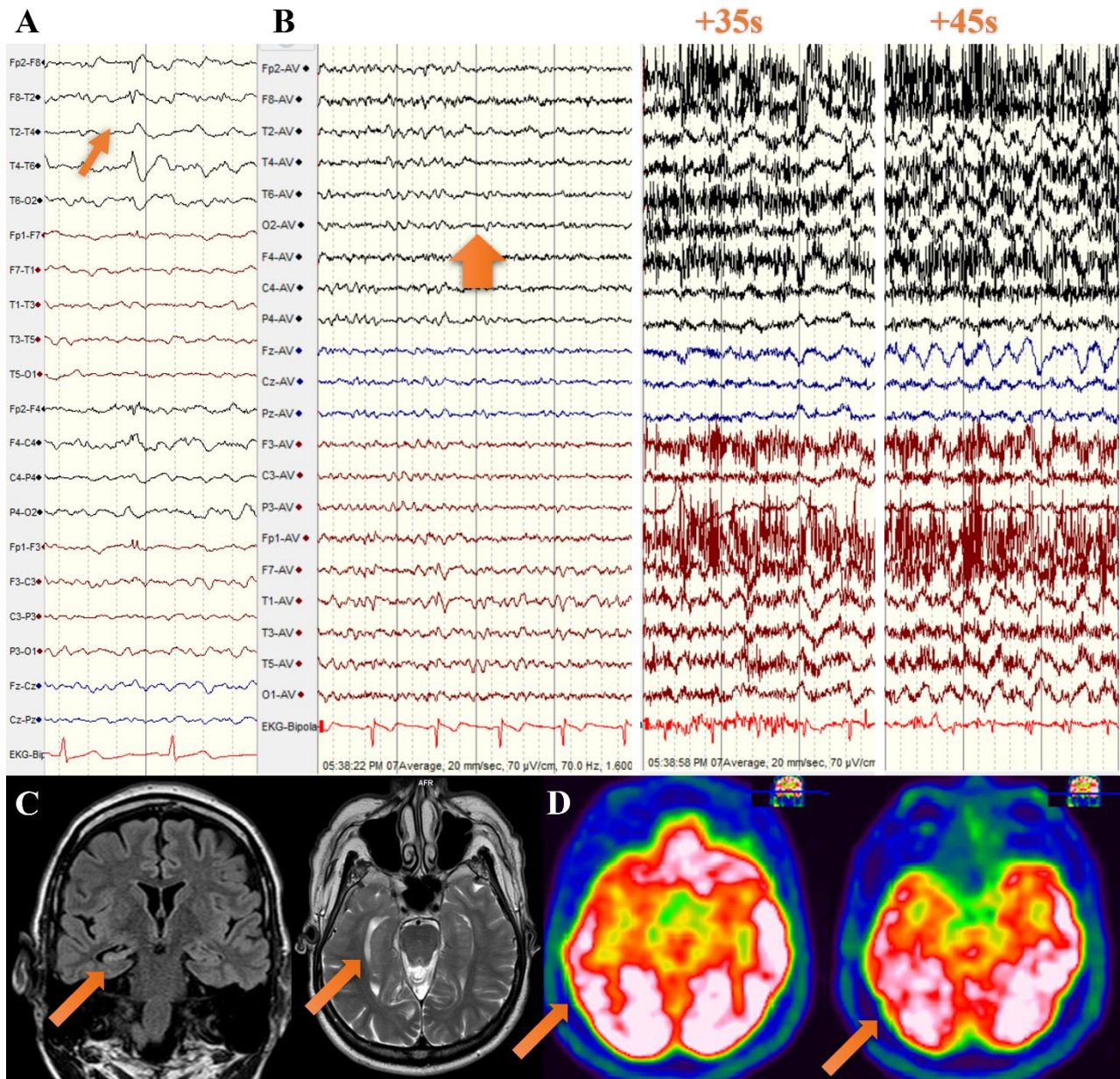
Ova varijanta je detektovana kod pacijenta 7 (64, M) čija rođena sestra ima unuka i unuku koji boluju od epilepsije i kod kojih su napadi precipitirani febrilnim stanjem (Slika 65). Oboleo je od epilepsije sa 2 godine života. Napadi počinju senzornim autonomnim napadom u vidu hladnoće koja se penje kroz telo, koji je potom praćen pomućenjem svesti i automatizmima desne ruke i koji su se pri maksimalnoj frekvenciji javljali jednom u dva meseca. Sa jednakom frekvencijom su se javljali i napadi sa daljom evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade. Napadi su često precipitirani povišenom telesnom temperaturom. Najduži period remisije je bio 3 meseca, uprkos primeni 11 AEL (Tabela 39).



Slika 65 Pedigre pacijenta 7, nosioca varijante *GRIN2A* c.3578T>G, p.Leu1193Trp

Tokom VEM je registrovana jedna interiktalna populacija šiljaka nad desnim temporalnim regionom sa maksimumom nad T2 elektrodom, kao i četiri habitualna epileptička napada od kojih je u jednom registrovana atenuacija osnovnih ritmova nad desnom hemisferom praćena bilateralnim iktalnim ritmom, dok je iktalna aktivnost u preostala tri bila nelateralizovana. MR mozga na aparatu 1,5 T je pokazao HS desno, dok je FDG-PET mozga registrovao široku zonu hipometabolizma glukoze desnog temporalnog režnja koja obuhvata anteriorne, mezijalne, lateralne kao i posterolateralne regione (Slika

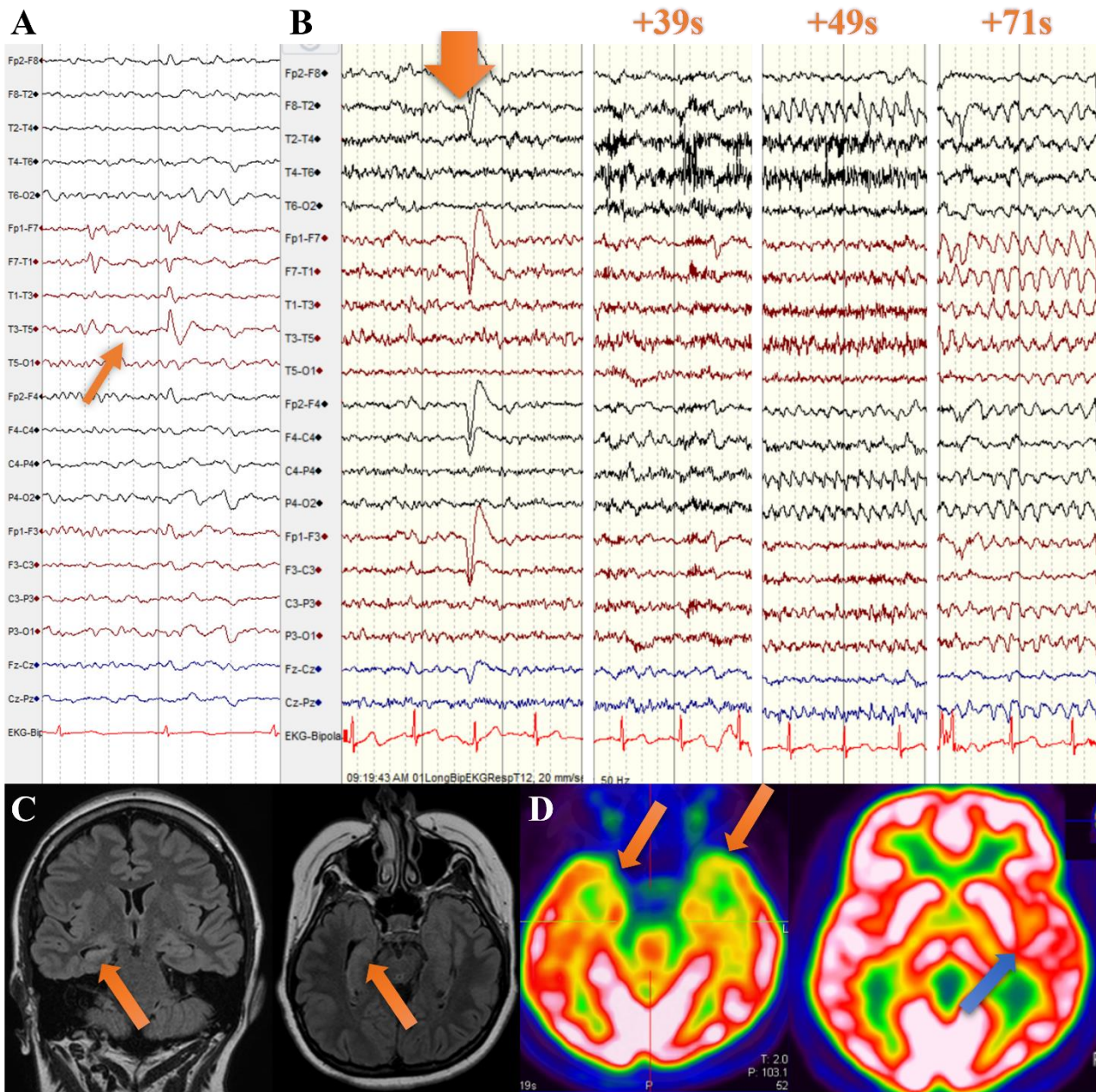
66). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da se radi o epilepsiji desnog temporalnog režnja plus udruženoj sa desnom HS. Ima perzistentne napade uprkos upotrebi četiri AEL.



Slika 66 Dijagnostički nalazi kod pacijenta 7: A interiktalni EEG – šiljak desno temporalno na T2 elektrodi (narandžasta strelica) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; B iktalni EEG – inicijalna atenuacija ritmova nad desnom hemisferom (strelica), praćeno bilateralnim ritmom (+35 s) u referentnoj montaži prema AV elektrodi; C MR mozga – HS desno; D FDG-PET mozga – hipometabolizam desno temporalno (strelica)

#### 4.3.2.4.1.2 Varijanta *GRIN2A* c.1586T>C, p.Val529Ala

Varijanta c.1586T>C, p.Val529Ala je registrovana kod pacijentkinje 8 (42, Ž) čiji otac boluje od epilepsije i koja je obolela od epilepsije sa 34 godine. Ima fokalne napade sa pomućenjem svesti koji se javljaju više puta nedeljno bez dužih perioda remisije, uprkos terapijskim pokušajima sa četiri AEL (Tabela 39).



Slika 67 Dijagnostički nalazi kod pacijentkinje 8: A interiktalni EEG – šiljak levo temporalno na T1 elektrodi (strelica) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; B iktalni EEG sa inicijalnom atenuacijom ritmova nad desnim temporalnim regionom (strelica), sa evolucijom u ritmičnu deltu nad desnim temporalnim regionom (+39 s), potom tetu u istoj distribuciji (+49 s) i potom ritmičnom tetom nad levim temporalnim regionom (+71 s) u longitudinalnoj bipolarnoj montaži; C MR mozga – HS desno; D FDG-PET mozga – hipometabolizam obostrano temporalno (narandžasta strelica) i levo insularno (plava strelica)

Tokom VEM je registrovana jedna interiktalna populacija nad levim temporalnim regionom i maksimumom elektronegativnosti na T1 elektrodi, kao i dva habitualna napada sa iktalnim početkom nad desnim temporalnim regionom. MR mozga na aparatu od 1,5 T je pokazao sklerozu desnog hipokampusa, dok je FDG-PET mozga pokazao hipometabolizam oba temporalna i levog insularnog režnja (Slika 67). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da pacijentkinja boluje od epilepsije desnog temporalnog režnja plus udružene sa desnom HS. Ima perzistentne napade oko jednom mesečno uprkos primeni dva AEL.

#### 4.3.2.5 Varijante od interesa u *PCDH19* genu

U *PCDH19* je registrovana jedna VOI koja predstavlja inserciju od 17 nukleotida (c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2). Ona nije prethodno prijavljena u ClinVar-u i nije registrovana u GnomAD, kao ni srpskoj bazi varioma. Lokalizovana je egzonu tri i korespondira intracitoplazmatskom domenu protokadherina 19. Pretragom insertovane sekvencije od 17 kodona u BLAST su nađena 383 mesta sa potpunim i nepotpunim preklapanjem od kojih su mnoga nađena u hromozomu 16, ali i u neposrednoj blizini mesta insercije, te je zaključeno da se radi o manjoj lokalnoj duplikaciji sa posledičnom izmenom okvira čitanja (*frameshift* varijanta). Klasifikovana je kao verovatno patogena (Tabela 37).

Sem navedene, u *PCDH19* je registrovana i insercija od 122 nukleotida (c.2987\_2988insCGACGGGACAGGTTATGCAGACAGTTTATCACTGACGGGTCTGCGTTGGCC TGCAGGAGAGAGACCATACAGACTCAAACGTGTGCACAGGGACACAGCTGGCATCGC GCTGTCTATTGA, p.Glu996AspfsTer79) lokalizovana u egzonu šest. Pretragom u BLAST, originalna sekvencija je locirana u *NPRL3* genu. Naknadnom vizuelnom inspekcijom je utvrđeno da se najverovatnije radi o artefaktu sekvenciranja, zbog čega je ona isključena iz dalje analize.

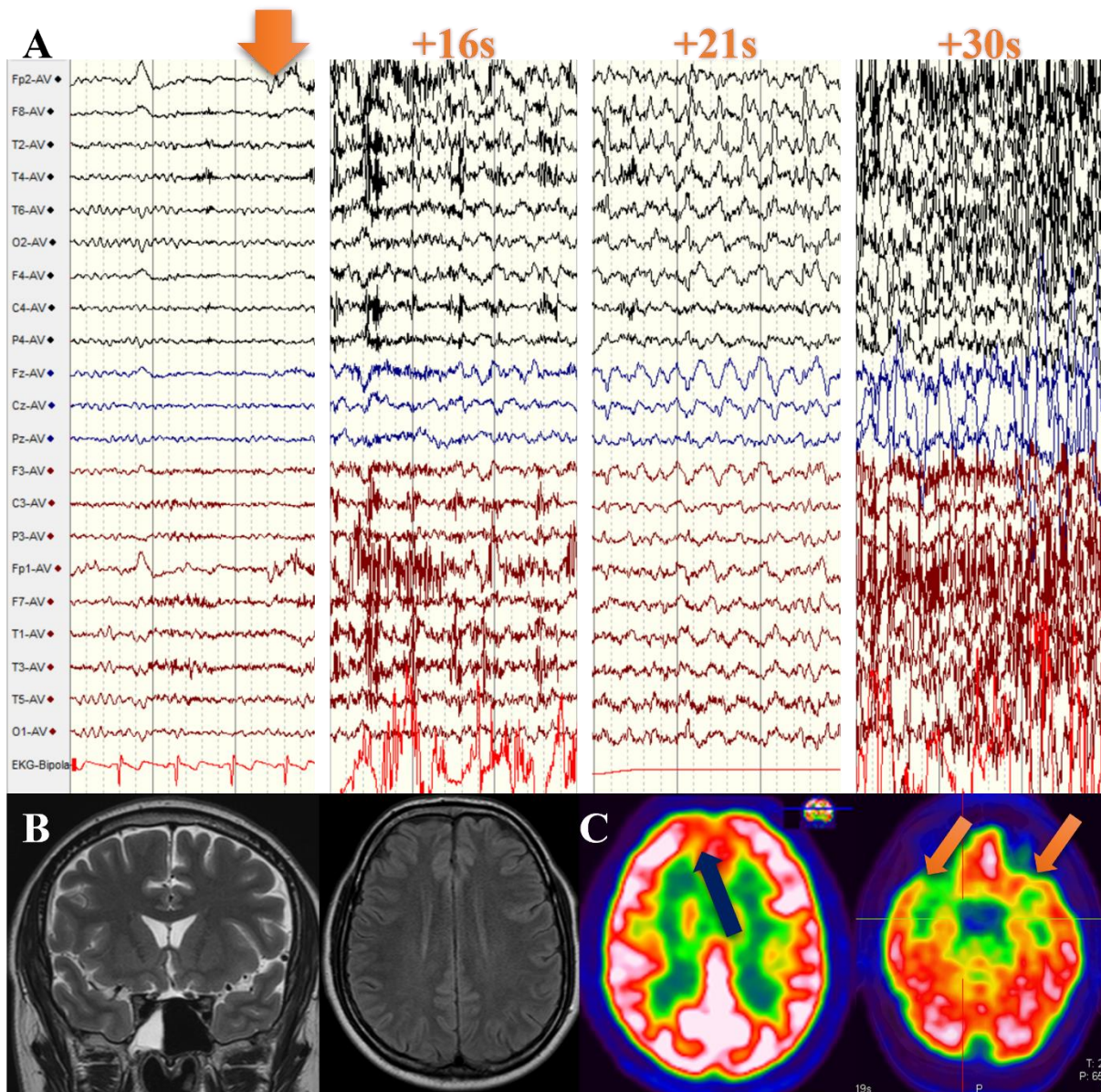
##### 4.3.2.5.1 Karakteristike nosilaca varijanti u *PCDH19* genu

###### 4.3.2.5.1.1 Varijanta *PCDH19* c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2

Varijanta c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2 je detektovana kod dva (2,1%) pacijenta, sa frakcijom varijantnog alela 0,2 kod pacijenta 8 i 0,13 kod pacijenta 9. Kako se radi o muškim ispitanicima i kako se *PCDH19* gen nalazi na X hromozomu, ovakva frakcija varijantnog alela sugerise mozaicizam porekla rane somatske varijante kod oba pacijenta.

Pacijent 8 (46, M) je oboleo od epilepsije sa 7 godina. Ima oca koji je imao jedan spontani neprovocirani epileptički napad. Ima napade i iz budnosti i iz spavanja u vidu inicijalnoj bilateralnog somatosenzornog napada praćenog pomućenjem svesti i genitopraksijom levom rukom sa evolucijom u bilateralni asimetrični tonični napad i klonizmima leve polovine lica nakon čega sledi evolucija u bilateralni toničko-klonički napad. Ovakve napade ima jednom u par meseci bez dužih perioda remisije, uprkos terapijskim pokušajima sa 5 AEL (Tabela 39).

Tokom VEM je registrovan jedan habitualni napad sa početkom iz spavanja i iktalnim početkom nad desnim frontalnim regionom. MR mozga na aparatu od 3 T sa 3D FLAIR sekvencom je bio uredan, dok je FDG-PET mozga pokazao hipometabolizam glukoze desno frontalno suprapolaro i obostrano temporalno (Slika 68). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da pacijent boluje od nelezione epilepsije desnog frontalnog režnja. Napadi se održavaju uprkos primeni tri AEL.

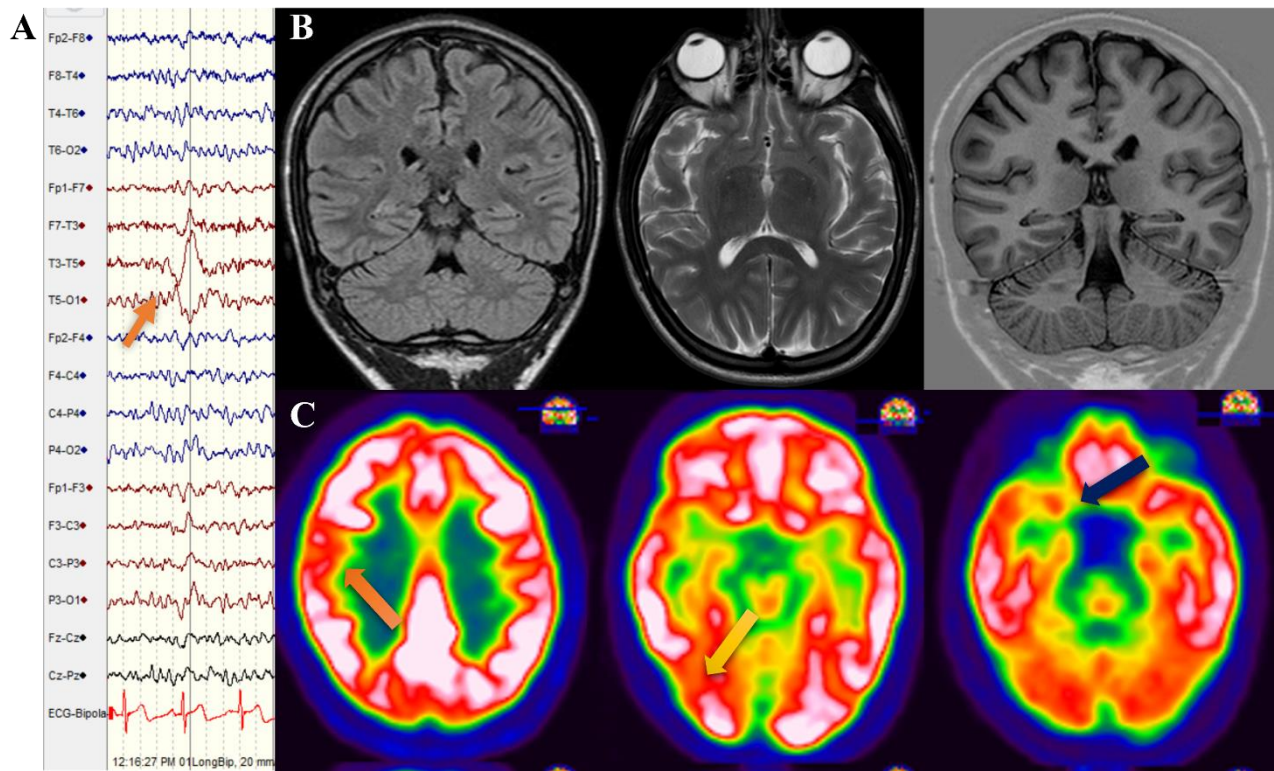


Slika 68 Dijagnostički nalazi kod pacijenta 9: A ictalni EEG – inicijalna atenuacija ritmova nad obe hemisfere (strelica), sa evolucijom u teta/delta aktivnost nad desnim frontalnim regionom (+16 s), koji je potom vidljiv obostrano frontocentralno (+21 s), nakon čega sledi generalizacija (+30 s) u referentnoj montaži prema AV elektrodi; C MR mozga – uredan; D FDG-PET mozga – hipometabolizam desno frontalno suprapolarno (plava strelica) i obostrano temporalno (narandžasta strelica)

Drugi nosilac ove varijante je pacijent 10 (19, M) čija majka boluje od epilepsije i čija bolest je počela kada je imao 17 godina sa napadima koji počinju pomućenjem svesti i evoluiraju u bilateralne toničko-kloničke napade. Imao je ukupno četiri napada tokom perioda od godinu i po dana do trenutka evaluacije, uprkos primeni dva AEL (Tabela 39).

Tokom VEM su registrovani oštri talasi nad levim temporoposteriornim regionom, dok napadi nisu registrovani. MR mozga na aparatu od 1,5 T je bio normalan dok je FDG-PET mozga pokazao hipometabolizam glukoze desnog frontalnog operkularnog, desnog okcipitalnog i desnog temporalnog regiona (Slika 69). Na Epileptološkom konzilijumu je zaključeno da pacijent boluje od melezije fokalne epilepsije neutvrđene lobarne dijagnoze.





Slika 69 Dijagnostički nalazi kod pacijenta 10: A interiktalni EEG – oštar talas levo temporoposteriorno nad T5 elektrodom u longitudinalnoj bipolarnoj montaži (strelica); B MR mozga – uredan; C FDG-PET mozga – hipometabolizam desno frontalno operkučarno (narandžasta strelica), desno okcipitalno (žuta strelica) i desno temporalno (plava strelica)



## 5 Diskusija

U periodu od približno 11 i po godina u Centru za epilepsije Klinke za neurologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije je evaluirano 1354 pacijenta. Organizacija rada našeg Centra se odražava na specifične karakteristike kohorte koje je neophodno uzeti u obzir pri analizi naših rezultata. Naime, prijem i evaluaciju u Centru za epilepsiju indikuju lekari Centra koji su usko specijalizovani u oblasti neurofiziologije i epileptologije. Pacijenti uključeni u kohortu su ekstenzivno ispitivani u okviru dijagnostičkog protokola u kome je strogo definisan minimum evaluacije podrazumevao anamnezu i pregled, standardne laboratorijske analize, VEM u trajanju od barem 96 h i MR mozga po epileptološkom protokolu: Pacijenti su tipično tokom više godina ambulantno praćeni od strane lekara Centra. Samim tim, radi se o tačno i precizno fenotipski definisanoj grupi pacijenata pacijenta sa visokom pouzdanošću postavljene dijagnoze.

Protokol ispitivanja se, nalik drugim centrima, sastojao od detaljne epileptološke anamneze sprovedena uz pomoć semistruktuisanog upitnika, somatskog i neurološkog pregleda, kompletne krvne slike, koagulacionog statusa i osnovnih biohemijskih analiza, dugotrajnog VEM, MR endokranijuma po protokolu za epilepsiju, neuropsihološkog testiranja i dopunskih mera funkcionalnog neuroimidžinga zasnovanog na metodama nuklearne medicine, u odabranim slučajevima (Baumgartner et al., 2019). Indikacije za ispitivanje su na prvom mestu obuhvatale prehiruršku evaluaciju pacijenata sa farmakorezistentnom fokalnom epilepsijom, diferencijalnu dijagnozu paroksizmalnih događaja i određivanje sindromske dijagnoze epilepsije, zbog čega je većina pacijenata u našem istraživanju obolela od FRE (American Electroencephalographic Society, 1994).

U ispitivanoj grupi pacijenata, kod 216 (16,0%) pacijenata je postavljena dijagnoza neepileptičkih paroksizmalnih događaja bez epilepsije, među kojima su najčešći bili PNEN od kojih je obolelo 108 (8,0%) pacijenata. Ovo je nešto manji broj nego što je pokazano u drugim studijama u kojima se procenat pacijenata sa PNEN kretao između 10% i 30% (Dobesberger et al., 2011; Mohan et al., 1996). Verovatno je ovakav ishod posledica specifične organizacije rada u okviru našeg Centra u kome se veliki broj pacijenata sa PNEN dijagnostikuje u okviru hospitalne opservacije bez upotrebe video-EEG monitoringa.

Većinu pacijenata u kohortama epileptoloških centara čine pacijenti sa FE (Dobesberger et al., 2011), što je evidentirano i u našim rezultatima u kojima je dijagnoza GE postavljena kod 76 (6,9%), KGFE 26 (2,3%) i NE 38 (3,4%) pacijenata, dok je dijagnoza FE postavljena kod 968 (87,4%) pacijenata (Tabela 21, Slika 37). Razlog za to verovatno leži u prognozi fokalne epilepsije i njenom odgovoru na terapiju. Naime, još od Ročesterske studije je poznato da GE ima i bolji farmakoterapijski odgovor i bolju dugoročnu prognozu nakon obustave terapije u odnosu na FE među kojima svega oko trećina obolelih doživljava dugoročnu remisiju nakon obustave AEL (Annegers et al., 1979). Zbog toga je fokalna epilepsija povezana sa visokim morbiditetom, kao i socio-ekonomskim opterećenjem kako pacijenata tako i zdravstvenog sistema, te su ovi pacijenti tipično predmet opsežnih dijagnostičkih evaluacija i terapijskih razmatranja izvan konvencionalne antiepileptičke terapije (Ioannou et al., 2022). Prehirurška evaluacija potencijalnih kandidata je jedna od najčešćih indikacija za evaluaciju u epileptološkim centrima i predstavlja prvi neophodni korak u hirurškom lečenju epilepsije, koja je za ove pacijente često najbolji terapijski izbor (Engel, 2018).

U našu studiju je uključeno 965 konsektivnih pacijenata sa fokalnom epilepsijom. Pacijenti su bili ujednačene polne distribucije, a prosečna starost pacijenata pri ispitivanju je bila 32 (5-84) godine, što je slično rezultatima iz prethodnih studija (Dobesberger et al., 2011). Kod preko polovine obolelih je bolest počela do uzrasta od 14 godina, što odgovara rezultatima iz hirurških centara u kojima su vrlo malo zastupljeni pacijenti sa početkom bolesti u kasnijoj životnoj dobi (Mohan et al., 1996).

Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i epileptičke napade je imalo 160 (16,6%) pacijenata, od kojih je 136 (14,1%) imalo pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju (Tabela 26, Slika 44). Najveći broj pacijenata je imao jednog obolelog srodnika, među kojima je kod oko 1/3 to bio srodnik I stepena srodstva (Tabela 27, Slika 46). Dvadeset osmoro je imalo dva obolela srodnika, dok je daleko manje obolelih imalo troje ili više obolelih srodnika. Većina drugih studija je ograničila definiciju familijarne epilepsije na postojanje obolelih prvostepenih srodnika i one su našle zatupljenost ovih pacijenata od 5,6% u opštoj populaciji pacijenata sa FE (Peljto et al., 2014), do 12,0% u populaciji pacijenata sa NAFE (Ottman et al., 1997). Jedna studija iz Indije koja je u analizu uključila srodnike do II stepena srodstva u koju su, slično našoj bili uključeni i srodnici sa jednim spontanim neprovociranim napadom, febrilnim napadima, ali i akutnim simptomatskim napadima, je našla pozitivnu anamnezu na epilepsiju i srodna oboljenja kod čak 20% obolelih (Jain et al., 2004), te naši rezultati ulaze u opseg onih zabeleženih u prethodnim studijama.

Naša studija je obuhvatila srodnike do III stepena srodstva. Opravdanost ovakve definicije familijarne anamneze sastoji se u redukovanoj penetrantnosti genskih varijanti uključenih u patogenezu fokalne epilepsije zbog čega mnogi oboleli nasleđuju patogenu varijantu od zdravog roditelja (Baldassari et al., 2019a). Stoga bi se ograničavanjem na analizu samo probanada sa obolelim prvostepenim srodnicima prevideli mnogi pacijenti sa genetski determinisanom bolešću. Ovaj stav je odražen i u definiciji familijarne bolesti korišćene od strane Epi4K konzorcijuma u koju su takođe uključeni srodnici do III stepena srodstva (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Ipak, nedostatak ovog pristupa je u tome što pouzdanost porodične anamneze opada sa porastom stepena srodstva, kao i starosnom udaljenošću probanda i obolelog srodnika, pogotovu kada se radi o stariji srodnicima (Ottman et al., 1996b). U našoj studiji, ovaj nedostatak je u najvećoj mogućoj meri nadomešćen uzimanjem porodične anamneze od najstarijeg ženskog srodnika, kada god je to bilo moguće, kako je u studijama pokazano da ovako dobijena porodična anamneza ima najveću pouzdanost (Ottman et al., 2011).

Pozitivna porodična anamneza na febrilne napade nađena kod svega 18 (1,9%) pacijenata, što je ispod očekivane s obzirom na to da se njihova prevalencija u opštoj populaciji kreće između 2 i 5% (Steering Committee on Quality Improvement and Management, Subcommittee on Febrile Seizures American Academy of Pediatrics, 2008; Verity et al., 1985). Međutim, anamneza na febrilne napade kod nekih pacijenata nije registrovana iz metodoloških razloga jer su u ovu grupu svrstani samo pacijenti kod koji je najbliži oboleli srodnik bolovao samo od febrilnih napada, ne i epilepsije. Među srodnicima obolelim od epilepsije verovatno postoji značajan broj onih koji su prethodno bolovali od febrilnih napada (Vestergaard et al., 2007), ali ti podaci nisu bili dostupni zbog nepouzdanosti anamneze o događajima sa velikom vremenskom distancom, kao i napadima u odsustvu epilepsije (Ottman et al., 2011) tako da nisu uzimani u obzir.

Najčešća lobarna dijagnoza među našim pacijentima je bila TLE (389, 40,3%), potom FLE (129, 13,4%), PQE (105, 10,9%) pacijenata (Tabela 23, Slika 41), što se u velikoj meri podudara sa rezultatima prethodnih studija (Semah et al., 1998). Lobarnu dijagnozu nije bilo moguće utvrditi kod skoro trećine pacijenata (310, 32,1%), prevashodno zbog strogih kriterijuma za postavljanje lobarne dijagnoze koji postoje u našem Centru i koji su korišćeni za potrebe definisanja lobarne dijagnoze u ovoj analizi (str. 80).

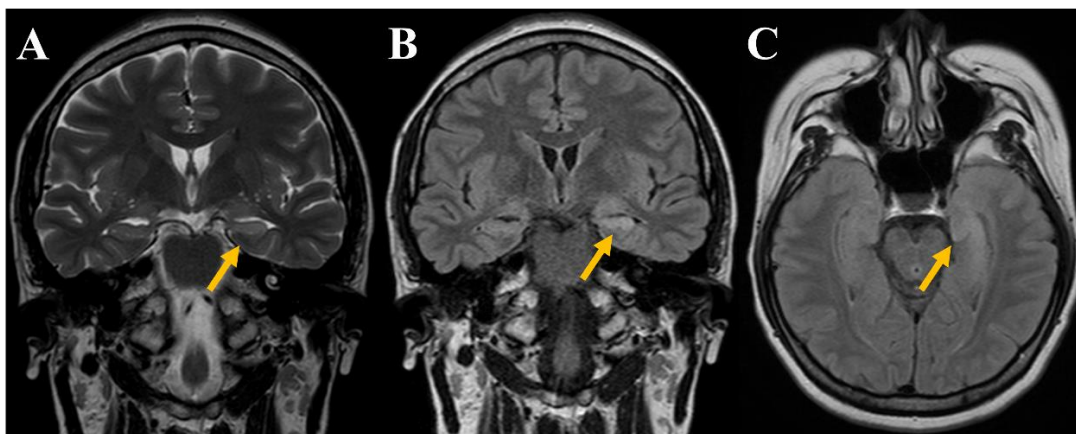
Nova ILAE klasifikacija epilepsije prepoznaje definisanje njene etiologije kao integralni deo dijagnostičkog postupka (Scheffer et al., 2017). Prema njoj je etiologija epilepsije klasifikovana u šest mogućih kategorija (Slika 1) koje se mogu međusobno preklapati, odnosno bolest može pripadati jednoj ili većem broju etioloških kategorija. Ilustrativan prototip ovog principa je TSC u kojoj je etiologija epilepsije definisana i strukturnim (kortikalni tuber) i genetskim (*TSC1* i *TSC2*) uzrokom. Prvi korak u

definisaju etiologije epilepsije je u najvećem broju slučajeva MR mozga kojom je moguće definisati strukturnu etiologiju bolesti kod preko polovine pacijenata sa FE (Wieshmann, 2003).

MR mozga je bila okosnica etioloških razmatranja tokom dijagnostičke evaluacije pacijenata u našem Centru. Standardni dijagnostički protokol je, shodno anamnestičkim podacima, somatskom i neurološkom statusu, kao i nalazu MR mozga, bio dopunjen laboratorijskim ili drugim ispitivanjima u slučajevima sumnje na metaboličku ili inflamatornu etiologiju bolesti. Međutim, ovi pacijenti su u ispitivanoj grupi bili retki jer je većina pomenutih ispitivanja sprovedena tokom dijagnostičke obrade pacijenata pre razmatranja evaluacije u epileptološkom centru, te za pacijente sa utvrđenom etiologijom koja pripada jednoj od navedenih kategorija dalje epileptološko ispitivanje često nije bilo indikovano. Samim tim, u našem istraživanju postoji manja zastupljenost pacijenata navedenih etiologija bolesti. Posebno je važno istaći da su pacijenti sa epilepsijom kojoj je prethodila infekcija ili metabolički insult koji se može dovesti u vezu sa nastankom epilepsije, ali koji nije ostavio detektabilne markere oboljenja poput laboratorijskih nalaza ili strukturne sekvele, kategorizovani u NLFE, a samim tim i u NSFEE. Kako je u našem istraživanju prosečno kašnjenje epileptološke evaluacije iznosilo 16 godina od trenutka postavljanja dijagnoze, a kod nekih pacijenata bilo duže od 6 decenija, zaključeno je da su kod ovakvih pacijenata anamnestički podaci o insultima koji su prethodili nastanku bolesti, izuzev u retkim dobro dokumentovanim slučajevima, nedovoljno pouzdani za njihovo uključivanje u grupu SFE. Shodno tome, u okviru ispitivane grupe pacijenata sa NSFEE verovatno postoji i mali broj pacijenata sa nepotvrđenom SFE.

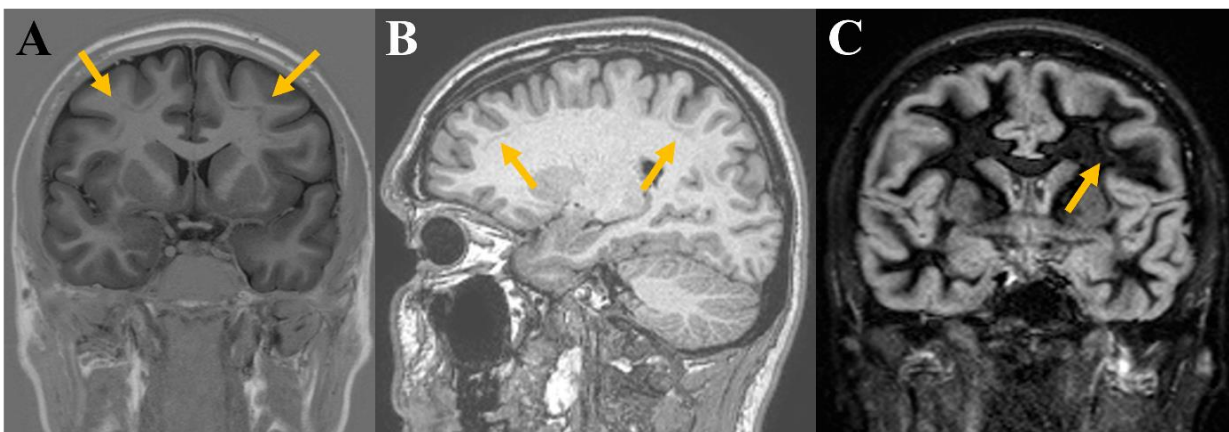
Uzevši sve navedeno u obzir, naša studija etiologije FE je ograničena na njenu strukturnu etiologiju sa malim delom bolesnika čija etiologija bolesti obuhvata i drugu etiološku kategoriju. Među ograničenjima ovakvog pristupa je bitno istaći da MR mozga nije idealan alat u definisanju etiologije strukturnih lezija i često postoje diskrepancije između radiološki i patohistološki definisane epileptogene lezije (Kovačević et al., 2015). Ipak, MR mozga nam omogućava uvid u strukturnu etiologiju bolesti kod daleko šireg spektra pacijenata od onog u patohistološkim studijama koje su ograničene na hirurške kohorte (Blumcke et al., 2017). Moderne studije koje sagledaju etiologiju pacijenata sa FE u kontekstu savremenih indikacija za genetsko testiranje u velikim kohortama bolesnika epileptoloških centara nedostaju, te je među ciljevima našeg istraživanja bilo i premošćavanje ovog jaza.

Dijagnostički postupak u našem Centru je podrazumevao MR mozga visoke rezolucije na aparatu od 1,5 T prema epileptološkom protokolu koji obuhvata volumetrijske sekvence sa tankim presecima i bez prostora između susednih preseka (tzv. eng. *interslice gap*), kao i angulaciju preseka koja optimizirana prema regiji mozga od interesa: Ispitivanje je kod nekih pacijenata dopunjeno i 3D FLAIR volumetrijskom sekvencom na aparatu od 3 T. Prinos ovako sprovedene MR mozga u našem istraživanju je bio 66,0%, dok kod 329 (34,1%) pacijenata nije zabeležena epileptogena lezija (Tabela 24, Slika 42). Pri analizi literaturnih podataka o zastupljenosti NLFE, nailazimo na veliku diskrepanciju između rezultata iz hirurških kohorti, gde je njena učestalost očekivano manja i kreće se između 16% (Bien et al., 2009) i 23% (Berg et al., 2003), i opšte populacije pacijenata sa FE ispitivanih u okviru epileptoloških centara među kojima se NLFE može naći, slično kao u našem istraživanju, kod oko trećine pacijenata (Nguyen et al., 2013; Wieshmann, 2003). Ovakvi rezultati odražavaju praksu rada u našem Centru, koji nije isključivo opredeljen za ispitivanje hirurških kandidata te samim tim obuhvata skup pacijenata koji je bliži opštoj populaciji pacijenata sa FE od onih zastupljenih u hirurškim kohortama. Ovakvo objašnjenje je podržano i rezultatima kanadske studije Hainc i sar. u koju je bio uključen veliki broj pacijenata koji nisu bili hirurški kandidati i u kojoj je trećina obolela od NLFE uprkos primeni MR aparata od 3 T u čitavoj grupi pacijenata (Hainc et al., 2022).



Slika 70 Hipokampalna skleroza levo (žute strelice): A - T2 koronarni presek – atrofija i gubitak signalitacije; B – T2 FLAIR koronarni presek – atrofija i povišen intenzitet signala; C – T2 FLAIR aksijalni presek – atrofija i povišen intenzitet signala

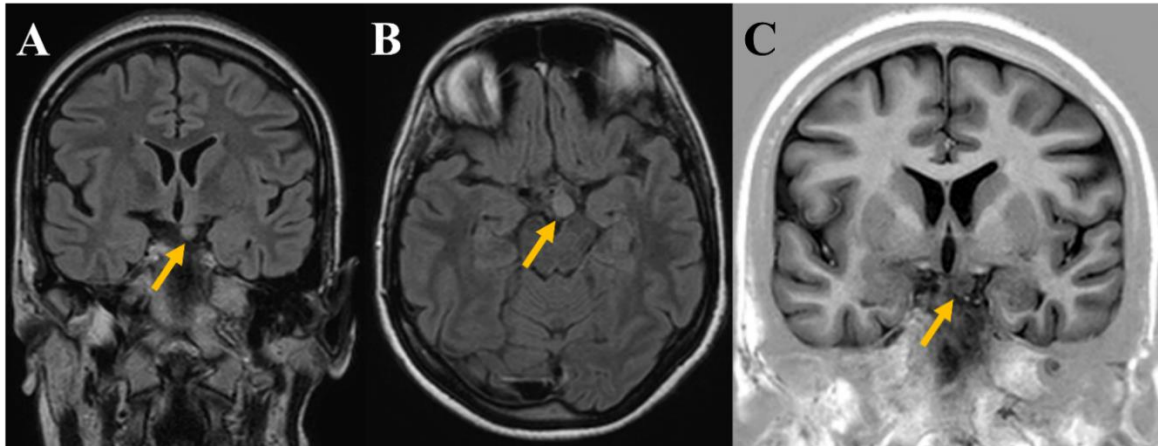
Najčešća lezija u ispitivanoj grupi pacijenata je bila HS, koja je registrovana kod 213 (22,1%) pacijenata (Tabela 24, Slika 42). Hipokampalna skleroza je najčešće hirurški lečena epileptogena lezija i shodno tome je tipično najzastupljeniji nalaz MR mozga u centrima koji su primarno orijentisani prema hirurškom lečenju epilepsije. U njima se njena zastupljenost kreće između jedne (Blumcke et al., 2017) i dve trećine pacijenata (de Tisi et al., 2011). Međutim, pretpostavlja se da je učestalost HS u opštoj populaciji pacijenata sa FE daleko manja. U studijama fokusiranim na pacijente sa prvim napadom u kojima je zastupljenost HS bila najmanja, ona je iznosila oko 10% (King et al., 1998), dok je dostizala jednu četvrtinu u kohortama epileptoloških centara sa FRE (Wieshmann, 2003). Naši rezultati su vrlo slični onim iz serije Nguyen i sar. koji su analizirali 843 pacijenta u adultnom tercijarnom epileptološkom centru u Montrealu u koju su, sem pacijenata koji su razmatrani kao hirurški kandidati bili uključeni i brojni pacijenti upućeni sa drugim indikacijama i među kojima je 17% imalo HS (Nguyen et al., 2013).



Slika 71 Kortikalna trakasta heterotopija bilateralno (žute strelice): A – T1 IR koronarni presek; B – T1 MPRAGE sagitalni presek; C – T2 DIR koronarni presek

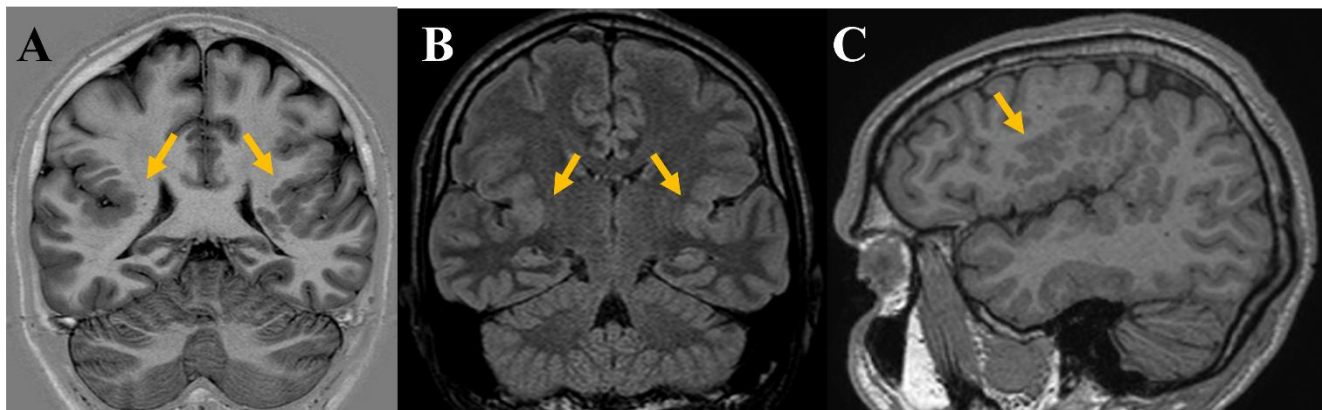
Interesantno je da je u našem istraživanju nađena slična zastupljenost FCD (kod 107, 11,1% pacijenata), glioze (kod 103, 10,7% pacijenata) i tumora (87, 9,0% pacijenata). U analizama koje su uključivale pacijente sa prvim napadom (King et al., 1998) ili novodijagnostikovanom epilepsijom kod odraslih pacijenata (Hakami et al., 2013), tumori su bili daleko češći od HS. Hakami i sar. su tumore našli kod 26 (2,6%) pacijenata sa novodijagnostikovanom epilepsijom, među kojima su najzastupljeniji bili meningeomi (15 pacijenata), a potom gliomi (6 pacijenata), dok je HS otkrivena kod svega 14 (1,4%)

pacijenata. Nasuprot tome, u našem istraživanju su 60% tumora bili LEAT, vrlo slično distribuciji u EEBB (Blumcke et al., 2014), što je verovatno odraz tendencije da se oboleli od glioma ili meningeoma primarno zbrinjavaju prema onkološkim indikacijama i relativno retko upućuju na epileptološku evaluaciju. Nasuprot tome, u studiji Wieshmann i sar. u kojoj je MR mozga visoke rezolucije rađena isključivo u sklopu prehirurške evaluacije, tumori su činili svega 5%, dok je HS detektovana kod 26% kohorte (Wieshmann, 2003).



Slika 72 Hipotalamički hamartom (žute strelice): A – T2 FLAIR koronarni presek; B – T2 FLAIR aksijalni presek; C – T1 IR koronarni presek

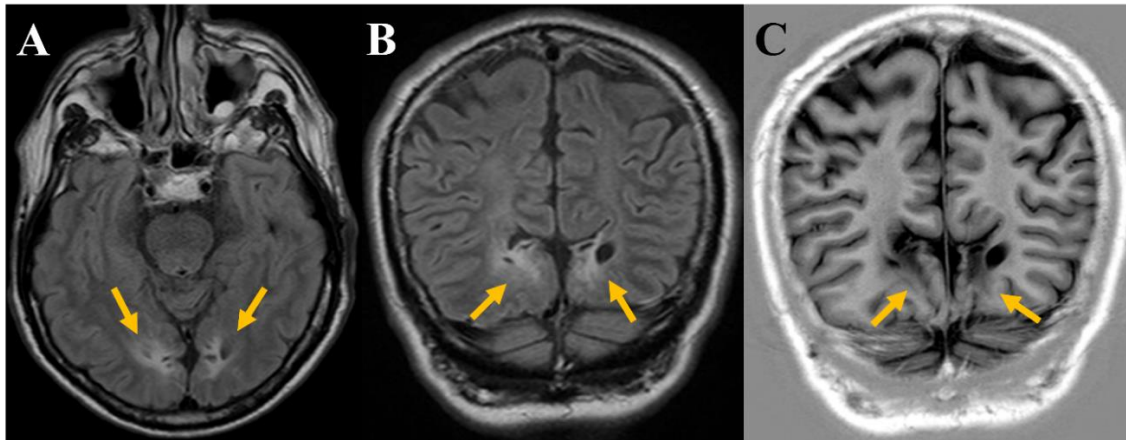
FCD i druge kortikalne malformacije su u našem istraživanju bile visoko zastupljene, ako uzmemo u obzir to da se radi o dominantno adultnoj populaciji pacijenata, što verovatno odražava činjenicu da se u našoj zemlji mali broj dece upućuje na hirurško lečenje epilepsije, kada se u drugim zemljama pacijenti sa epilepsijom udruženom sa kortikalnim malformacijama tipično operišu (Vasilica et al., 2023). Pritom, ne treba izgubiti iz vida da je senzitivnost MR mozga relativno niska za detekciju FCD. Podaci iz jedne hirurške serije pokazuju da čak polovina pacijenata sa histološki potvrđenom FCD nije imalo vidljivu leziju na MR mozga (Bautista et al., 2003). Stoga treba imati u vidu da među NLFE verovatno postoji značajan broj pacijenata sa ovom patologijom



Slika 73 Bilateralna perisilvijalna polimikrogirija (žute strelice): A – T1 IR koronarni presek; B – T2 FLAIR koronarni presek; C – T1 MPRAGE sagitalni presek

Gliozna je često registrovana u serijama pacijenata sa prvim napadom (King et al., 1998; Olszewska and Costello, 2014), a malo zastupljena u hirurškim kohortama (de Tisi et al., 2011), što je

verovatno posledica relativno dobrog farmakoterapijskog odgovora gde preko polovine ovih pacijenata postiže potpunu kontrolu napada uz pomoć antiepileptičkih lekova (Semah et al., 1998). U ispitivanoj grupi pacijenata je gliozna registrovana kod 103 (10,7%) pacijenta, što je verovatno odraz već pomenute heterogene strukture kohorte naših pacijenata kojima je prehirurška evaluacija bila najčešća ali ne i jedina indikacija za ispitivanje i što je gotovo identično procentu dokumentovanom u već pomenutoj studiji Hainc i sar koja je takođe bazirana na populaciji pacijenata tercijernog epileptološkog centra (Hainc et al., 2022)



Slika 74 Gliozna bilateralno okcipitalno (žuta strelica): A – T2 FLAIR aksijalni presek, B – T2 FLAIR koronarni presek; C – T1 IR koronarni presek

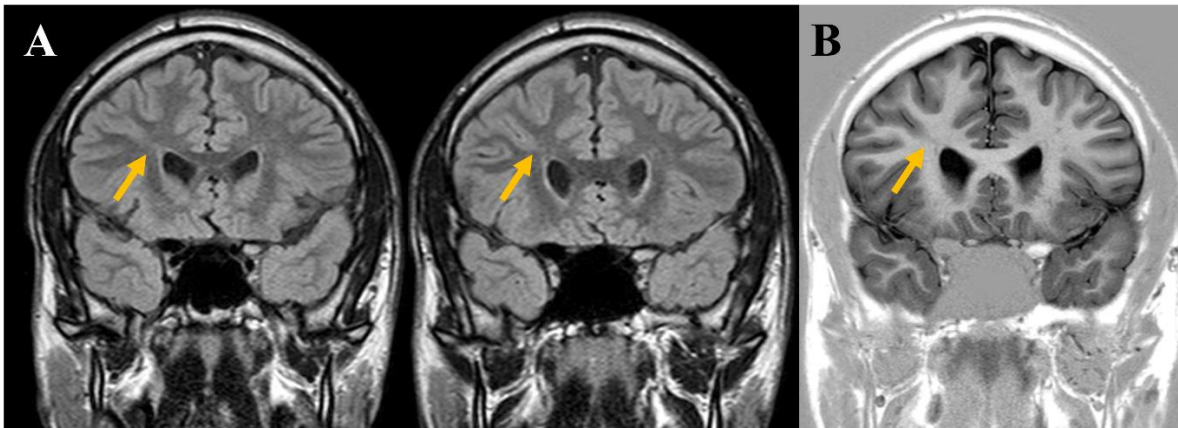
Zastupljenost vaskularnih malformacija u hirurškim kohortama (Blumcke et al., 2017), kao i kohortama epileptoloških centara (Wiesmann, 2003) ali i pacijenata sa prvim napadom (King et al., 1998) je bila u velikoj meri ujednačena i iznosila je oko 5%, što je saglasno i sa našim rezultatima.

Autoimuna epilepsija je registrovana u relativno malom procentu (svega 1,3% pacijenata), što verovatno odražava relativno slabo prepoznavanje ovog entiteta tokom perioda praćenja naše kohorte. Prema nekim autorima, čak do 5% pacijenata sa epilepsijom nepoznate etiologije boluje od imunski posredovane epilepsije (Dubey et al., 2017), zbog čega se smatra jednim od najčešćih neprepoznatih uzročnika FRE. Među našim pacijentima ova dijagnoza je zahtevala prisustvo vidljivih MR promena, zbog čega su pacijenti sa neprepoznom AIE u našem istraživanju verovatno svrstani u grupu NLFE.

Lokalizacija epileptogene lezije i njena konkordantnost sa elektro-kliničkim karakteristikama napada je važan korak u definisanju lobarne dijagnoze FE (Kovačević, 2017). Zbog toga nije iznenađujuće da više od polovine pacijenata sa neutvrđenom lobarnom dijagnozom u našem istraživanju nije imalo vidljivu epileptogenu leziju (Slika 43, Tabela 25).

Etiologija epileptogenih lezija se značajno razlikuje među različitim lobarnim sindromima. Među pacijentima sa TLE najčešća lezija je očekivano bila HS koja je otkrivena kod približno polovine pacijenata sa ovim lobarnim sindromom, što je u skladu i sa rezultatima ranijih studija (Jeha et al., 2006). Pacijenti koji su imali elektro-kliničke karakteristike ekstratemporalne epilepsije sa udruženom HS su u našem istraživanju klasifikovani kao TLE+, zbog čega HS nije registrovana među pacijentima sa dijagnozom FLE, PQE ili ILE. Pacijenti sa NSFE su češće imali TLE, dok je kod SFE češće nađena ETLE (Tabela 30), verovatno usled česte lokalizacije sekvela prethodnih insulta kao i tumora u ekstratemporalnim regionima. Porodična anamneza nije uticala na distribuciju lobarnih sindroma kod pacijenata sa NSFE (Tabela 33).

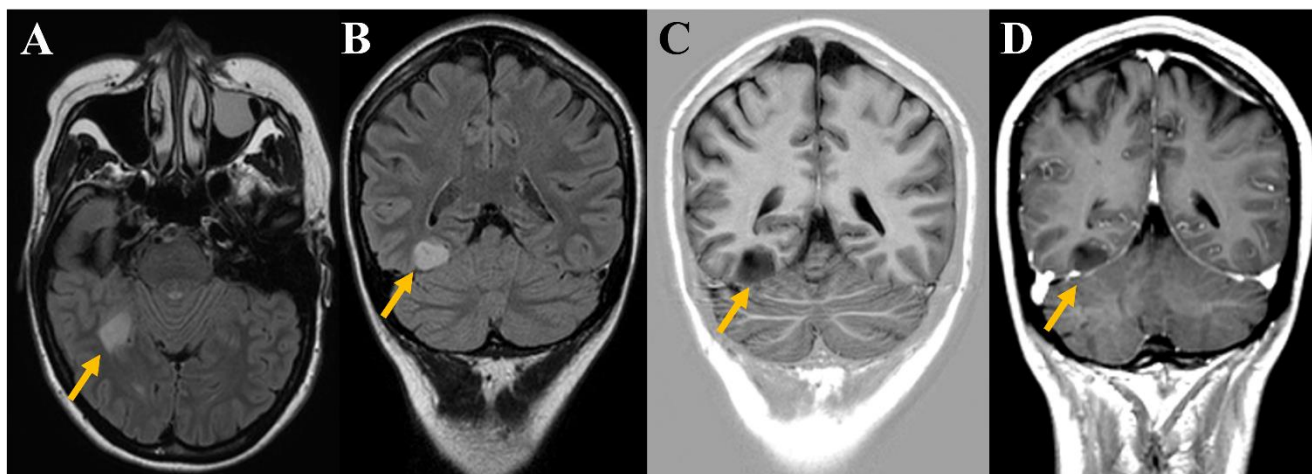




Slika 75 Fokalna kortikalna displazija tip IIb (Taylor-ov tip) na dnu sulkusa frontalno desno sa transmantle znakom: A – T2 FLAIR koronarni presek, dva susedna preseka; B – T1 IR koronarni presek

Oboleli od FLE, PQE i ILE su najčešće imali FCD. U studiji iz Klinike u Klivlendu, SAD, od 158 pacijenata FLE 59% je imalo neku malformaciju kortikalnog razvoja, najčešće FCD (Simasathien et al., 2013). U jednoj multicentričnoj studiji koja je analizirala 548 pacijenata sa FCD iz 20 epileptoloških centara, FCD je bila locirana u frontalnom režnju kod 262, temporalnom kod 158, korteksu posteriornog kvadranta kod 110, cingularnom girusu kod 10 i insuli kod 8 pacijenata (Wagstyl et al., 2022), što je u skladu i rezultatima iz naše kohorte u kojoj je 38 pacijenata sa TLE; 32 pacijenta sa FLE, 24 pacijenta sa PQE i 7 pacijenata sa ILE imalo FCD. Najčešće *vruće tačke* u ovoj studiji su bile nađene u superiornom frontalnom girusu, frontalnom i temporalnom polu, kao i celom dužinom superiornog temporalnog girusa, što može delimično objasniti i relativno veliku zastupljenost FCD kod pacijenata sa PQE u našem istraživanju. Naime, u odsustvu jasne anatomske granice, u našem centru se iz praktičnih razloga granica anteriorne temporalne lobektomije koristi za demarkaciju između temporalnog i okcipitalnog režnja. To znači da su pacijenti sa leziom iza ove granice i konkordantnim elektro-kliničkim sindromom klasifikovani kao oboleli od PQE, a ne TLE čak i ako imaju leziju u superiornom temporalnom girusu.

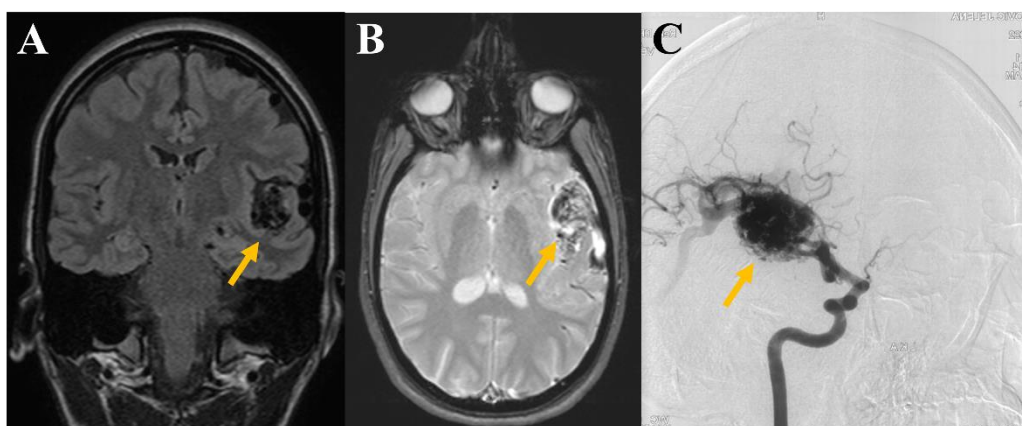
Glioza kao uzrok epilepsije se u pedijatrijskoj populaciji najčešće sreće kao sekvela perinatalnog hipoksičko-ishemijskog ili hipoglikemijskog oštećenja mozga kada je tipično ograničena na okcipitalne režnjeve (Caraballo et al., 2004; Oguni et al., 2008), dok se u starijoj populaciji najpre javlja kao sekvela moždanog udara, infekcije, operacije ili traume, kada često zahvataju temporalne ili frontalne režnjeve (Kazemi et al., 1997; Ouerdiene et al., 2023; Wang et al., 2023). Glioza je među našim pacijentima detektovana kao drugi najčešći uzročnik PQE ali i FLE. Verovatno objašnjenje za ovu distribuciju lezija leži u starijoj populaciji u našem istraživanju u odnosu na one u kojoj dominira glioza posteriornih segmenata (Dash et al., 2018) zbog čega je u našem istraživanju zabeležena i relativno male zastupljenosti pacijenata sa HIE.



Slika 76 Temporookcipitalni disembrioplastični neuroepitelijalni tumor (žuta strelica): A – T2 FLAIR aksijalni presek; B – T2 FLAIR koronarni presek; C – T1 IR koronarni presek; D – T1 sa kontrastom koronarni presek

Drugi najčešći uzrok TLE bio tumor (kod 44, odnosno 11,3% pacijenata), što je očekivano s obzirom na visoku zastupljenost LEAT u našem istraživanju (62,0% svih tumora) koji tipično imaju predilekciju za strukture paralimbickog regiona (Mandonnet et al., 2006), dok su se u FLE i PQE oni javljali ređe od FCD i glioze.

Većina vaskularnih malformacija je lokalizovana u frontalnim režnjevima (Rosenow et al., 2013). Međutim, epilepsija se češće javlja kod temporalnih VM u odnosu na one lokalizovane u drugim kortikalnim regionima, zbog čega se u epileptološkim kohortama (Goyal et al., 2023; Shih et al., 2022) i hirurškim serijama najčešće pronalaze u TLE (von der Brellie et al., 2013). U ispitivanoj grupi pacijenata, VM su imale relativno ujednačenu zastupljenost u svim lobarnim sindromima, iako je daleko najveći broj obolelih sa VM imao upravo TLE. Izuzetak je ILE u kojoj su VM zabeležene kod čak tri (23,1%) pacijenata, u kojoj su bili drugi najčešći uzrok ove epilepsije. U pregledima literature insularne VM izostaju u hirurškim kohortama i uglavnom su opisane kao pojedinačni slučajevi (Abe et al., 1997; Sharma et al., 2016).



Slika 77 Insularna arterio-venska malformacija: A – MR mozga T2 FLAIR koronarni presek; B – MR mozga T2\* aksijalni presek, C – digitalna suptrakciona angiografija endokranijalnih krvnih sudova

Autoimuna epilepsija je bila retka i uglavnom vezana za epilepsiju neutvrđene lokalizacije, što je u skladu sa tipično difuzno rasprostranjenim lezijama (Graus et al., 2016).

U kontekstu moderne etiološke paradigme, među najvažnijim distinkcijama koje je potrebno napraviti je ona između SFE, koju možemo dovesti u vezu sa spoljašnjim uzrokom moždanog oštećenja i NSFEE kod koje se pretpostavlja snažan doprinos genetskih činioca. Iako su ovi termini tek od skoro u upotrebi, oslanjaju se na poznatu distinkciju između *simptomatske* i *idiopatske/kriptogene* bolesti. Termin NSFEE je prvi put upotrebljen od strane Epilepsy Phenoge/Genome Project (EPGP), istraživačkog projekta Nacionalnog instituta za neurološke bolesti i moždani udar (eng. *National Institute of Neurological Disorders and Stroke*, NINDS) u SAD, čija prvobitna strategija je bila ispitivanje genetske osnove genetskih generalizovanih epilepsija, nelezionih fokalnih epilepsije, infantilnih spazama, LGS i epilepsije udružene sa kongenitalnim malformacijama (Epi4K Consortium, 2012). Međutim, sa akumulacijom znanja o njihovoj zajedničkoj genetskoj osnovi, postalo je jasno da je pacijente sa epilepsijom udruženom sa HS i NLFE potrebno sagledati zajedno u okviru ispitivanja genetske osnove FE, pogotovu ako se uzme u obzir da je HS među najčešćim izazivačima ove bolesti. Tako su u seminalnoj studiji EPGP i Epi4K konzorcijuma pored pacijenata sa NLFE uključeni i pacijenti sa HS (Epi4K consortium and EPGP, 2017), a kao zajednički termin za čitavu grupu obolelih je upotrebljen termin *nestečena fokalna epilepsija*. Sa daljom ekspanzijom razumevanja genetike FE postaje jasno da bolesnici sa kongenitalnim malformacijama pripadaju istom patološkom kontinuumu (Guerrini et al., 2020) te su u okviru naše studije oboleli od NLFE, FE udružene sa HS i KPE zajednički sagledani pod terminom NSFEE, dok se oboleli od FE udružene sa gliozom izuzev onih u sklopu HIE, tumorima, VM ili AIE sagledaju pod terminom SFE.

Ne treba izgubiti iz vida da su mnogi činioci koje danas smatramo stečenim insultima takođe delimično determinisani genetskim faktorima. Pa tako, kavernom, koji dovodi do epilepsije posredstvom epileptogenog delovanja degradacionih produkata hema na okolno zdravo moždano tkivo, može da se javiti familijarno u okviru genetski determinisanog sindroma (Morrison and Akers, 1993). Isto tako epilepsija udružena sa postanoksičnim sekvelama perinatalne traume je visoko uslovljena genetskim faktorima koji dovode do HIE (Woodward et al., 2023). Šta više, neke nokse će dovesti do ispoljavanja bolesti samo kod bolesnika odgovarajuće genetske konstitucije. Tako je na primer kod postraumatske epilepsije rizik od pojave epilepsije 2,3 puta veći kod obolelih koji imaju pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju (Christensen et al., 2009). Čak i u slučaju akutnih simptomatskih napada je neophodno postojanje genetske predispozicije koja dovodi do toga da se akutne noksa ispolji kao epileptički napad, dok se u njenom odsustvu to neće dogoditi (Ottman et al., 1996a). Ipak, kako se radi o spektru entiteta drugačijeg genetskog profila, sa daleko manjim genetskim uplivom, distinkcija između NSFEE i SFE ostaje opravdana.

U našem istraživanju 253 (26,2%) pacijenata je obolelo od SFE (Slika 47), što se u visokom stepenu podudara sa epidemiološkim podacima iz Ročesterskog registra (Hauser et al., 1991). Nije nađena značajna razlika u polnoj distribuciji obolelih niti starosti u trenutku ispitivanja. Međutim, shodno premisi da je NSFEE zavisna predominantno od urođenih, genetskih faktora, dok je stečena epilepsija uzročno posledično vezana za stečenu noksu, poput traume ili moždanog udara, početak bolesti je bio očekivano raniji (13 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ), pa je samim tim je i bolest duže trajala (17 vs. 12 godina,  $p < 0,001$ ) kod obolelih od NSFEE (Tabela 28). Slično našim rezultatima, epidemiološki podaci iz Ročesterskog registra pokazuju da preko 80% obolelih od epilepsije pre 35. godine boluje od NSFEE ili epilepsije povezane sa kongenitalnim ili perinatalnim uzrokom, dok je posle ovog uzrasta prisutan progresivan porast udela novoobolelih od epilepsije udružene sa stečenim uzrocima poput moždanog udara, infekcije, traume, tumora ili degenerativne bolesti (Hauser et al., 1993). Ovi faktori posle 65. godine postaju najčešći uzrok novonastale epilepsije. Izuzetak u ovom trendu su oboleli tokom prve godine života među kojima je približno jednaka zastupljenost obolelih od NSFEE i SFE. Dok broj novoobolelih posle prve godine u grupi SFE progresivno opada do posle 35. godine kada ponovo počinje

da raste i dostiže svoj vrhunac u starosti, kod NSFE se on održava relativno postojanim, a počinje da opada tek u četvrtoj deceniji života, što je prisutno i u našim rezultatima (Tabela 29).

Naši podaci su pokazali da je učestalost prisustva epilepsije i srodnih poremećaja među srođnicima obolelih bila značajno veća među obolelima od NSFE (19,1% vs. 9,2%,  $p = 0,003$ ), što se održavalo i kada su razmatrani samo pacijenti sa srođnicima obolelim od epilepsije (16,1% vs. 8,4%,  $p = 0,003$ ). Najrobusniji podaci o oboljevanju od epilepsije kod srođnika imamo iz seminalne Studije o familijarnoj epilepsiji Univerziteta Kolumbija. Oni, u skladu i sa našim rezultatima, pokazuju povećan rizik od oboljevanja među srođnicima obolelih od NSFE koji u toj studiji nije pokazan kod obolelih od SFE (Ottman et al., 1996b). Šta više, rizik od oboljevanja među srođnicima obolelih od SFE je nezavisan od toga da li je epilepsija posledica moždanog udara, traume, infektivne bolesti, tumora ili drugih uzroka i u svim navedenim grupama odgovara onom u opštoj populaciji (Ottman et al., 1996a). Ipak, pri analizi rezultata iz Studije Univerziteta Kolumbija, kao i onih iz Ročesterskog registra i poređenju sa našim rezultatima treba uzeti u obzir činjenicu da su među pacijentima u tim studijama kao posebna etiološka grupa razmatrani pacijenti sa kongenitalnim ili perinatalnim uzrokom bolesti. U nju su bili uključeni pacijenti sa malformacijama kortikalnog razvoja, HIE i oni sa neutvrđenim uzrokom epilepsije, ali sa udruženom IO. Njihovo izdvajanje kao posebnog entiteta je odraz percepcije ove grupe bolesnika kao dela drugačijeg patološkog spektra od NSFE. Međutim, osim što je kod ovih pacijenata nađen najviši rizik od oboljevanja srođnika od bilo koje epilepsije, nađen je i specifično povišen rizik od oboljevanja od NSFE, dok je među srođnicima obolelih od NSFE nađen povišen rizik od oboljevanja od epilepsije udružene sa kongenitalnim ili perinatalnim uzrocima (Ottman et al., 1996a). Ovakvi rezultati sugerišu da ova grupa bolesnika čini deo istog patološkog kontinuuma sa NSFE, čime je opravdano njihovo uključivanje u ovu grupu u našem istraživanju.

U našem istraživanju su oboleli od SFE imali približno jednaku zastupljenost TLE i ETLE, dok je kod pacijenata sa NSFE dijagnoza TLE bila značajno češća (Tabela 28). Ovi rezultati su u kontrastu sa distribucijom lobarnih sindroma zabeleženoj u populacionih registrima gde je zastupljenost TLE daleko veća u odnosu na ETLE u obe etiološke grupe (Sillanpää et al., 1999; Zarrelli et al., 1999), ali je saglasna sa onom viđenom u studiji na pedijatrijskoj populaciji jednog epileptološkog centra (Wakamoto et al., 2004). Objašnjenje za ovu diskrepanciju se verovatno sastoji u detaljnijoj evaluaciji pacijenata u epileptološkim centrima u poređenju sa pacijentima u registrima među kojima je do 2/3 imalo nedefinisan lobarni sindrom (Zarrelli et al., 1999), među kojima je verovatno veliki broj obolelih sa ETLE:

Ekspanzija sekvenciranja nove generacije i široka dostupnost genetskog testiranja je nametnula potrebu za boljim razumevanjem kliničkih i radioloških markera koji mogu pomoći u selekciji kandidata za genetsku dijagnostiku. Optimizacija strategije sekvenciranja prema potrebama definisane populacije pacijenata omogućava redukciju troškova uz obezbeđivanje visokog prinosa ispitivanja. Ovakvim pristupom se obezbeđuje šira dostupnost genetskog testiranja u epileptološkim centrima sa ograničenim sredstvima.

Studije iz druge polovine XX veka su uspostavile aktuelnu paradigmu prema kojoj su najrobusniji pokazatelji genetski determinisane bolesti neutvrđen ili kongenitalni uzrok, rani početak FE i prisustvo epilepsije i srodnih poremećaja među srođnicima. Iako metodološki minuciozne, interpretacija njihovih rezultata zahteva razumevanje ograničenja nametnutih dostupnim dijagnostičkim mogućnostima u vreme njihovog izvođenja, kao i oskudnom kliničkom evaluacijom pacijenata u epidemiološkim registrima (Ottman and Susser, 1992). Jedan od ciljeva naše studije bio je utvrđivanje učestalosti familijarne pojave epilepsije i srodnih poremećaja kod obolelih od NSFE različitog radiološkog nalaza u velikoj grupi pacijenata bolesnika jednog tercijernog epileptološkog centra. Ograničenje ovakvog pristupa je u tome što je učestalost pozitivne porodične anamneze neprecizan pokazatelj naslednosti jer u velikoj meri zavisi

od metode akvizicije podataka, veličine uključenih porodica kao i odabira kontrolne grupe. Međutim, iako komparacija broja obolelih i zdravih srodnika daje značajno preciznije podatke, ovakve analize su vrlo osjetljive na pogrešnu klasifikaciju malog broja srodnika i obično nisu dostupne u velikim kohortama epileptoloških centara (Ottman et al., 1996b). Mi smo pokušali da obezbedimo visoku tačnost naših podataka primenom semistruktuisanog upitnika kod svih pacijenata prilikom prijema u naš centar, kao i dopunom porodične anamneze od majke ili najstarijeg ženskog srodnika, čime je optimizirana akvizicija anamnestičkih podataka (Ottman et al., 2011). Za kontrolnu grupu je uzeta grupa bolesnika sa SFE koja je dijagnostički obrađena prema istovetnom unapred definisanom protokolu. Ovakav pristup obezbeđuje veliku specifičnost dobijenih rezultata, a ekstenzivna dijagnostička obrada sprovedena u okviru epileptološkog centra obezbeđuje veliku pouzdanost epileptološke dijagnoze.

Familijarna pojava epilepsije i srodnih poremećaja u našem istraživanju je bila češća u svim podgrupama pacijenata sa NSFEE u odnosu na pacijente sa SFE, a njena zastupljenost je bila najveća kod NLFE (Tabela 31), što nije iznenađujuće s obzirom na dugo pretpostavljano genetsku osnovu ovog entiteta. Šta više, u skorašnjoj studiji pacijenata sa novodijagnostikovanom epilepsijom iz Projekta humane epilepsije (eng. *Human epilepsy project*), čak 78% pacijenata sa pozitivnom porodičnom anamnezom nije imalo vidljivu leziju na MR čak i sa upotrebom MR mozga od 3 T (Bank et al., 2022), što je verovatno posledica relativno veće zastupljenosti NLFE među novodijagnostikovanim pacijentima u odnosu na pacijente u tercijernim centrima.. U našem istraživanju je pozitivnu porodičnu anamnezu imalo 23,7% obolelih od NLFE, što je vrlo slično rezultatima iz jedne indijske studije koja je obuhvatila heterogenu kohortu pacijenata sa epilepsijom među kojima su bili i pacijenti ispitivani u sklopu prehirurške evaluacije i oni koji su ambulantno praćeni (Jain et al., 2004). Ova studija je takođe obuhvatila srodnike obolele od epilepsije, kao i one sa febrilnim napadima, jednim spontanim neprovociranim epileptičkim napadom, ali i akutnim simptomatskim napadima kod srodnika do II stepena srodstva i pronašla je obolele srodnike kod 22,6% obolelih od nelezionne epilepsije, što je, kao i u našoj studiji, bilo statistički značajno češće u odnosu na pacijente sa SFE. Danska studija sprovedena u pedijatrijskoj populaciji je takođe pokazala sličan udeo pacijenata sa NLFE koji su imali obolele srodnike prvog stepena (23,4%) (Callenbach et al., 2003). U italijanskoj studiji sprovedenoj u okviru *Episcreen* projekta su opservirani manji procenti bolesnika sa familijarnom pojavom bolesti – svega 6,5% prvostepenih srodnika obolelih od epilepsije, 3,2% sa febrilnim napadima i 0,5% onih sa febrilnim napadima i epilepsijom (Bianchi et al., 2003). Ovakav raspon dobijenih rezultata je verovatno posledica velike metodološke nedoslednosti među studijama u kojima postoji varijabilna definicija stepena srodstva srodnika koji se uzimaju u obzir prilikom analize, tipa epilepsije i srodnih oboljenja, kao i analizirane populacije. Ipak, sve studije dosledno beleže češću pojavu obolelih srodnika među pacijentima sa NLFE u odnosu na SFE, što je potvrđeno i u studijama koje su ispitivale rizik od oboljevanja među srodnicima. Jedina novija epidemiološka studija koja je izučavala ovaj problem se oslanja na Ročesterski registar i pokazuje 2,2 puta povećan rizik od oboljevanja među srodnicima pacijenata sa NLFE, dok kod pacijenata sa SFE on nije bio različit u odnosu na opštu populaciju (Peljto et al., 2014). Šta više, familijarna pojava epilepsije je češća među obolelima sa NLFE u poređenju sa drugim pacijentima sa NSFEE, poput onih sa HS (Asadi-Pooya and Farazdaghi, 2022).

Nije pronađena statistički značajna razlika u distribuciji različitih dijagnoza kod srodnika obolelih od NSFEE različite strukturne etiologije i SFE. Pacijenti sa SFE su imali jednog (8,4%) ili najviše dva obolela srodnika (1,7%), dok je su tri ili više obolelih srodnika imali samo pacijenti sa NSFEE (Tabela 32, Slika 49). Najveći broj srodnika je bio 7 koliko je zabeleženo kod dva pacijenta obolela od NLFE, što je u skladu sa već prethodno etabliranim snažnim genetskim doprinosom u nastanku ove bolesti.

U našoj studiji je 15,5% obolelih sa HS imalo pozitivnu porodičnu anamnezu, što je bilo statistički značajno češće u odnosu na obolele od SFE (Tabela 31), i što je u skladu sa rezultatima ranijih studija

(Briellmann et al., 2001). Međutim, u prethodnim studijama familijarna pojava epilepsije i srodnih oboljenja je prijavljena kod nešto većeg procenta bolesnika koji se kretao od 20% do čak 58% (Briellmann et al., 2001; Deleo et al., 2016; French et al., 1993; Sánchez et al., 2014). Interpretacija podataka iz nekih od ovih studija je otežana prisustvom neočekivano velikog broja zdravih ispitanika sa obolelim srodnicima, koji je u jednoj od studija bio čak 24% (Briellmann et al., 2001), što verovatno odražava specifičnosti metodologije u ovoj studiji. U jednoj studiji koja je izučavala kliničke karakteristike pacijenata sa različitim histološkim tipom HS nije nađena razlika u učestalosti familijarne pojave epilepsije, a ona se među grupama kretala između 14% i 31% (Deleo et al., 2016).

Hipokampalna skleroza je dugo smatrana stečenim entitetom, povezanim sa kompleksnim febrilnim napadima i febrilnim epileptičkim statusom. Ovo pitanje je opsežno analizirano u FEBSTAT studiji koja je izučavala posledice kompleksnih febrilnih napada (Lewis et al., 2014). Rezultati ove studije su pokazali da kod dela dece kod koje nakon kompleksnih febrilnih napada dolazi do oštećenja hipokampusa i posledične HS već postojeće abnormalnosti hipokampusa (McClelland et al., 2016). Ove anomalije su verovatno uključene kako u proces razvoja HS tako verovatno figurišu i kao predisponirajući faktor za razvoj kompleksnih febrilnih napada. Zdravi srodnici pacijenata sa HS takođe imaju suptilne morfološke izmene hipokampusa koje je moguće detektovati pomoću MR mozga (Tsai et al., 2013; Yaakub et al., 2019). Šta više, deca kod kojih postoji pozitivna porodična anamneza na febrilne napade imaju povećan rizik od razvoja kompleksnih febrilnih napada i febrilnog epileptičkog statusa (Hesdorffer et al., 2013). Kao potencijalno objašnjenje razmatrane su varijante u genima, kao što su natrijumske kanalopatije. U jednoj maloj pedijatrijskoj seriji bolesnika sa *SCN1A* varijante, HS je ustanovljena kod čak polovine pacijenata, dok je kod 10% bolest bila bilateralna (Van Poppel et al., 2012). Osim toga, opisana je i familijarna forma mezijotemporalne epilepsije udružena sa HS (Cvetkovska et al., 2018; Gambardella et al., 2009; Striano et al., 2008). Ovi rezultati sugerišu da se HS, barem kod dela pacijenata, razvija kao posledica postojeće genetske osnove, što je podržano i time da familijarna i sporadična HS imaju različiti profil intracelularnih molekularnih procesa. Maurer-Morelli i sar. su pokazali da u preparatima familijarne HS dominira mRNK ekspresija uključena u RNK obradu i sinaptički plasticitet, dok je kod sporadične dominirala aktivacija gena uključenih u inflamaciju (Maurer-Morelli et al., 2022). Samim tim je moguće je da u okviru histopatološkog spektra HS postoji više etioloških entiteta.

U grupi epilepsije sa KPE, obolele srodnike je imalo 14,9% pacijenata, što je bilo češće u odnosu na SFE, ali na granici statističke značajnosti (Tabela 31). Ova grupa je obuhvatila heterogenu populaciju bolesnika među kojima su mali deo činili i pacijenti sa hipoksičko-ishemijskom encefalopatijom, dok je najveći broj oboleo od epilepsije udružene sa kongenitalnim malformacijama. U Studiji Univerziteta Kolumbija je u ovoj grupi pacijenata pokazan najveći rizik za oboljevanje među srodnicima koji je bio čak 3,1 puta veći u odnosu na opštu populaciju (Ottman et al., 1996a), ali je među našim pacijentima sa NSFE u ovoj grupi pacijenata procenat onih sa pozitivnom porodičnom anamnezom bio najmanji. Šta više, u literaturi je prijavljen vrlo varijabilan procenat pacijenata sa epilepsijom udruženom sa kongenitalnim malformacijama i familijarnom bolešću koji se kretao u rasponu od 2% do 26% (Gungor et al., 2007; Liu et al., 2015; Mathew et al., 2010; Mittal et al., 2014; Papayannis et al., 2012). U jednoj studiji je čak nađena veća učestalost familijarne pojave epilepsije kod obolelih od FE druge strukturne etiologije u odnosu na obolele od FE udružene sa kongenitalnim malformacijama (Montenegro et al., 2002a). Razlozi za ovakve rezultate su višestruki, ali sem metodoloških razlika u dizajnu studija, veličini uzorka i ispitivanoj populaciji, verovatno veliki deo varijabilnosti potiče od samih poremećaja.

Dobro je poznato da su mnoge kongenitalne malformacije determinisane genskim varijantama koje kao značajan faktor figurišu i u njihovoj klasifikaciji (Barkovich et al., 2012). Međutim, mnoge varijante udružene sa kongenitalnim malformacijama nisu nasleđene već nastaju *de novo* na nivou

gameta (Touraine et al., 2022) ili u vidu somatskih varijanti tokom intrauterinog razvoja (Deb and Bateup, 2021) kada su često uslovljene prenatalnim noksama poput izlaganju teratogenim supstancama ili infekciji. Zbog toga nije iznenađujuće da kod čak 20% pacijenata sa kongenitalnim malformacijama, epilepsiji prethodi neka prenatalna noksa (Liu et al., 2015), sa njihovom najčešćom pojavom kod obolelih od lizencefalije i shizencefalije (Gungor et al., 2007). Posebno je interesantno da se među ovim pacijentima beleži visoka stopa porođajnih komplikacija poput prevremenog porođaja ili perinatalne asfiksije koja se može videti čak i kod četvrtine pacijenata (Mittal et al., 2014): Time se nameće pitanje kakav međusobni odnos imaju kongenitalne malformacije i HIE, pogotovu ako uzmemo u obzir da se kod nekih pacijenata sa HIE može naći i udružena fokalna kortikalna displazija (Wang et al., 2017). Šta više, kod dece obolele od HIE se često mogu detektovati patogene varijante u genima povezanim sa nastankom epilepsije, što je pokazano kod čak 10/28 novorođenčadi u jednoj studiji (Woodward et al., 2023). Moguće je da neki pacijenti dijagnostikovani sa HIE imaju epilepsiju drugog kongenitalnog uzroka, ali je isto tako moguće da su geni uključeni u nastanak epilepsije i kongenitalnih malformacija predisponirajući faktor za nastanak HIE.

Uzevši sve navedeno u obzir, nastanak kongenitalnih malformacija verovatno određuje međusobna interakcija noksi tokom intrauterinog razvoja i genetske osnove. Montenegro i sar. su zaključili da se u spektru malformacija kortikalnog razvoja izdvajaju tri grupe obolelih – oni sa FCD koji često imaju udruženu epilepsiju koja je tipično teška i farmakorezistentna, ali imaju manje izražen doprinos naslednih i prenatalnih činioca, oni sa heterotopijom sive mase ili agirijom-pahigirijom kod kojih je izražena nasledna komponenta i oni sa PMG i shizencefalijom kod kojih je ređa pojava epilepsije ali postoji čvrsta povezanost sa naslednim i perinatalnim faktorima (Montenegro et al., 2002a). U našem istraživanju, najčešća kongenitalna lezija je bila FCD (107/174, 61,5%), čime se verovatno barem delimično može objasniti relativno retka familijarna pojava epilepsije.

Početak epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata je bio kasniji u odnosu na opštu populaciju bolesnika sa epilepsijom u svim etiološkim grupama (Tabela 34) i odgovarao je onom tipičnom za adultne epileptološke centre poput našeg (Bautista et al., 2003; French et al., 1993; Gasparini et al., 2013). Pacijenti sa NSFE u svim grupama su imali raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE, ali u grupi obolelih sa NLFE ova razlika nije dostigla statističku značajnost, verovatno zbog relativno retkog početka NLFE tokom prvih pet godina života tokom kojih je procenat obolelih od NLFE i SFE bio približno isti (12,2% vs. 12,4%, Tabela 35). Kriva početka bolesti kod pacijenata sa NLFE je imala trend rasta do sredine druge decenije da bi potom postepeno opadala do sredine četvrte decenije kada se zaravnjivala (Slika 50), a najveći broj obolelih od NSFE su imali početak bolesti između 5. i 19. godine života (Tabela 35). U svim ostalim grupama krive početka bolesti su imale tendenciju progresivnog pada tokom prvih decenija života. Ovi rezultati su poredivi sa krivama uzrasno zavisne incidencije novodijagnostikovane epilepsije koji su pokazani u Ročesterskom registru (Hauser et al., 1993). Međutim, s obzirom na to da je naše studija bila ograničena na kohortu bolesnika epileptološkog centra u kojima su, kako je već ranije pomenuto, bolesnici sa početkom u kasnoj životnoj dobi relativno malo zastupljeni, nije pokazan očekivani porast broja obolelih posle 35. godine. Međutim, čak 7,6% pacijenata sa NLFE posle 40. godine, što sugerise pre uticaj stečenih faktora na nastanak bolesti u koju mogu biti uključeni vaskularni (Abaira et al., 2019), inflamatorni (Süße et al., 2019) ili neurodegenerativni faktori (Neri et al., 2022).

Studija porodične epilepsije Univerziteta Kolumbija je pokazala da je vreme početka bolesti kod probanda dobar prediktor pojave epilepsije kod srodnika (Ottman et al., 1996a). Verovatnoća oboljevanja među srodnicima je bila 2,6-6,4 puta veća u odnosu na opštu populaciju i nije se značajno razlikovala između probanada koji su oboleli pre 15. i između 15. i 34. godine starosti. Nasuprot tome, rizik od oboljevanja među srodnicima obolelih posle 35. godine života je bio isti kao u opštoj populaciji. U skladu

sa ovim nalazima, kod naših bolesnika je zabeleženo značajno ranije vreme oboljevanja u grupi pacijenata sa NSFE i pozitivnom porodičnom anamnezom, ali ovakva razlika nije nađena u grupi obolelih od SFE (Tabela 34), što sugerise da uprkos postojanju pozitivne porodične anamneze, genetski faktori možda ne igraju presudnu ulogu u nastanku bolesti kod ovih pacijenata .

Približno 80% pacijenta sa NLFE ili HS i pozitivnom porodičnom anamnezom je obolelo od epilepsije do 19. godine, dok je taj procenat dostizao preko 90% kod obolelih od FE udružene sa KPE. Šta više, u svim podgrupama NSFE sa pozitivnom porodičnom anamnezom je najkasnije vreme početka bolesti bio u četvrtoj deceniji života, dok se kod obolelih sa SFE i pozitivnom porodičnom anamnezom on beležio i kasnije (Tabela 35). Kod FCD je u prethodnim studijama pokazano značajno ranije oboljevanje među pacijentima sa pozitivnom porodičnom anamnezom (Montenegro et al., 2002b), što je podržano i našim rezultatima. Nasuprot tome kod obolelih sa HS i pozitivnom porodičnom anamnezom početak epilepsije je bio kasniji i obično je nastupao u adolescenciji (medijana 15 godina starosti) (Janszky et al., 2004). U našoj studiji nije nađena statistički značajna razlika u početku bolesti između pacijenata sa pozitivnom porodičnom anamnezom i onih bez nje u grupi pacijenata sa HS, iako je preko 70% obolelih sa pozitivnom porodičnom anamnezom imalo početak bolesti do 14. godine, dok je u grupi sa negativnom porodičnom epilepsijom tako bilo kod svega polovine obolelih.

Uzevši sve navedeno u obzir, verovatno je kod pacijenata sa NSFE bilo koje strukturne etiologije koji obole posle 40. godine života verovatnoća genetskog uzroka bolesti mala, dok relativno čest početak bolesti u familijarnim slučajevima u četvrtoj deceniji opravdava razmatranje genetskog uzroka i kod pacijenata sa ovako kasnim početkom u slučajevima kada postoje drugi faktori koji sugerisu genetsku bolest.

Korektno postavljena genetska dijagnoza može biti ključna informacija u odlukama o daljoj dijagnostici, modalitetu lečenja, kao i optimizaciji terapijskog pristupa, čak i kod adultnih pacijenata (Johannesen et al., 2020). Uprkos tome, pravilna selekcija pacijenata za testiranje je veliki klinički izazov, pogotovu u FE u kontekstu oskudnih kliničkih smernica. Zbog toga u literaturi nailazimo na vrlo varijabilnu kompoziciju uzoraka pacijenata uključenih u studije sekvenciranja genskim panelima, pogotovu kada se radi o adultnoj populaciji pacijenata. U našu studiju je uključena grupa od 96 pacijenata obolelih od FE sa visokom kliničkom sumnjom na genetski determinisanu bolest. S obzirom na čestu pojavu genetske bolesti među obolelima od NAFE, naše istraživanje se fokusiralo na ovu grupu bolesnika. Prednost pri selekciji je data pacijentima sa pozitivnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje. Međutim kako je naša studija bila ograničena na mali set gena, pri selekciji su isključeni pacijenti iz grupe epilepsije udružene sa KPE čije strukturna etiologija nije dovedena u vezu sa selektovanim genima tokom prethodnih istraživanja. Finalnu grupu pacijenata je činilo 76 (79,2%) pacijenata sa NLFE, 16 (16,7%) pacijenata sa HS i 4 (4,2%) pacijenta sa FCD. Od njih, 65 (67,7%) je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu od kojih je kod 22 (22%) pacijenta najbliži oboleli srodnik bio I, kod 23 (24,0%) II, a kod 20 (20,8%) bio III stepena srodstva. Dvadeset pet pacijenata (26,0%) je imalo više obolelih srodnika (Tabela 36).



Tabela 42 Rezultati sekvenciranja genskim panelima u različitim studijama

	McKnight et al., 2022	J. Li et al., 2022	Hildebrand et al., 2016	Tsai et al., 2018	Krenn et al., 202)	Xiong et al., 2019	Perucca et al., 2017b	Naša studija
<b>Broj pacijenata</b>	2097	164	251	593	112	193	40	96
<b>Populacija</b>	>18 godina	odrasli FE 139 (86,0%) FCD 7 (4,2%)	NLFE+HS	NLFE+HS 560 (94,4%)	NLFE+HS	FRE FE (130 sa MR lezijom)	NLFE	NLFE 76 (79,2%) HS 16 (16,7%) FCD 4 (4,2%)
<b>Porodična anamneza kriterijum</b>	Ne	Ne	Ne	Ne	Da	Da	Da	Da
<b>Početak bolesti</b>	detinjstvo 22,4% adolesc.10,8% odraslo doba 8,6%	15,5 (SD 11,2)			15 (1-67)	13,99 (IQR 7,58-21,56)	17,5 (0- 70)	14,3 (SD 10,2)
<b>Pozitivna porodična anamneza<sup>§</sup></b>	598 (30%)	181 (11%)	51 (20%)	99 (16,7%)	37 (33%)	0 (0%)	40 (100%)	65 (67,7%)
<b>Broj sekvenciranih gena</b>	Paneli različite veličine, 1,6% panela imalo <100 gena	Paneli različite veličine (18-202 gena)	11	21	15 (455)*	3	64*	7
<b>Dijagnostički prinos</b>	10,9%	4,3%	0,8%	1,85% (1,26%&)	8%(12%)	0,52%	12,5%	7,3%
<b>Geni sa patogenim varijantama</b>	61 gen, najčešći SCN1A i MECP2	SCARB2, DEPDC5, PCDH19, LGI1, SCN1A, MT-TL1, CHRNA7	KCNT1, SCN1A	SCN1A, PRRT2, CHRNA4, DEPDC5, PCDH19, SLC2A1	DEPDC5, NPRL3, SCN1A, PCDH19, STX1B, GABRG2	DEPDC5	DEPDC5, SCN1A, PCDH19, GABRG2, NPRL2	DEPDC5, NPRL2, SCN1A, PCDH19

FE – fokalna epilepsija; FRE – farmakorezistentna epilepsija; SD – standardna devijacija; NAFE – nestečena fokalna epilepsija; HS – hipokampalna skleroza; NLFE – neleziona fokalna epilepsija; IQR – interkvartilni raspon (eng. *interquartial range*), FCD – fokalna kortikalna displazija (eng. *focal cortical dysplasia*); \*Sekvenciranje sprovedeno upotrebom WES ali je analizirano samo deo gena; § Definicija porodične anamneze jako varijabilna između studija; &Prinos kod pacijenata bez intelektualne onseposobljenosti

Prethodne studije su u pogledu kliničkih i radioloških karakteristika ispitanika imale vrlo različite selekzione kriterijume (Tabela 42). Među onim koje prilikom selekcije nisu uzimale u obzir porodičnu anamnezu, ona je bila pozitivna kod između 12% i 30% pacijenata (Hildebrand et al., 2016; J. Li et al., 2022; McKnight et al., 2022; Tsai et al., 2018). Međutim, definicija pozitivne porodične anamneze je jako varirala među studijama tako da je od strane jedne grupe autora definisana kao prisustvo bilo kog neurološkog oboljenja kod bilo kod srodnika (McKnight et al., 2022), dok su druge grupe imale restriktivnije definicije ograničene isključivo na dijagnozu epilepsije kod prvostepenih srodnika (Hildebrand et al., 2016; J. Li et al., 2022). U našem istraživanju je 22 (22,9%) pacijenata imalo obolele prvostepene srodnike, što je slično studiji Hildebrand i sar. koji su epilepsiju detektovali kod 20% prvostepenih srodnika (Hildebrand et al., 2016). U studiji Krenn i sar. u kojoj je jedan od ali ne i obavezan inkluzioni kriterijum bio epilepsija ili napadi kod barem jednog prvostepenog ili barem dva drugostepena srodnika, je 33% pacijenata imalo pozitivnu porodičnu anamnezu (Krenn et al., 2020), što je vrlo slično našoj studiji (Slika 53).

Izuzev studije Li i sar u koju je uključeno 4,2% pacijenata sa FCD (J. Li et al., 2022) i Xiong i sar. koja je uključila 130 pacijenata sa različitim lezijama na MR mozga, većina studija se fokusirala na sekvenciranje kod pacijenata sa NLFE i HS. Ovako definisana grupa ispitanika se poklapa sa originalnom EPGP definicijom NAFE koja je i dalje u širokoj primeni (EPGP Collaborative et al., 2013). Međutim, u našoj studiji su sem ovih pacijenata, uključena i 4 pacijenta sa FCD. Kako je naš panel gena u većem broju prethodnih studija povezan sa nastankom ove i srodnih MCD (Baldassari et al., 2019a; Barba et al., 2014; Kurian et al., 2018; Lai et al., 2022; Strehlow et al., 2019), isključivanje ovih pacijenata, pogotovu onih sa obolelim srodnicima, smo smatrali neopravdanim, što je dodatno podržano time što se udeo pacijenata sa detektovanim varijantama nije statistički značajno razlikovao između pacijenata sa lezionom i nelezionom NAFE kada su posmatrani svih sedam gena (20,0% vs. 7,9%,  $p = 0,209$ ), kao i Epi4K/EPGP subset gena (10,0% vs. 7,9%,  $p = 0,670$ ) ili samo geni GATOR1 kompleksa (10,0% vs. 2,6%,  $p = 0,191$ ).

Prosečna starost na početku bolesti je bila relativno ujednačena među kompariranim studijama, uključujući i našoj, i kretala se između 14,0 i 17,5 godina (Tabela 42). Izuzetak je bila studija McKnight i sar. koja nije prijavila prosečnu starost pacijenata, ali je navela da životnu dob početka bolesti za pacijente za koje je ona bila poznata i u njoj je relativno veliki broj obolelih imao početak u detinjstvu u odnosu na druge uzrasne grupe (McKnight et al., 2022). Interesantno je da izuzev naše studije i studije Krenn i sar, drugi autori nisu definisali vreme početka bolesti kao kriterijum pri selekciji, uprkos čemu se ona nije značajno razlikovala između studija. Moguće je da je ovaj fenomen barem delimično objašnjen isključivanjem pacijenata sa SFE što su podrazumevale sve studije, ali deo objašnjenja verovatno leži u tendenciji kliničara da bolesnike sa ranijim početkom bolesti upućuju na genetsko testiranje, što je bio metod selekcije u analizi McKnight i sar. i Li i sar. (J. Li et al., 2022; McKnight et al., 2022)

Većina pacijenata u ispitivanoj grupi pacijenata je imala TLE (43, 44,8%), a približno trećina (31, 32,3%) nije imala utvrđenu lobarnu dijagnozu (Tabela 36). naspram tome, u drugim kohortama je procenat obolelih od TLE bio značajno veći i kretao se između 51% i 65% (Hildebrand et al., 2016; Krenn et al., 2020; Tsai et al., 2018). U ispitivanoj grupi je komparativno bio veći broj obolelih od epilepsije neutvrđenog lobarnog sindroma, verovatno usled strogih kriterijuma koji se u našem centru koji su nametnuti orijentacijom našeg centra prema prehirurškoj evaluaciji prilikom određivanja lokalizacionih sindroma.

Veći broj studija je bio fokusiran na pacijente sa FRE, verovatno zato što su ovi pacijenti najveći klinički izazov u epileptološkim centrima. U studiji McKnight i sar je zastupljenost ovih pacijenata bila 39,7%, što odgovara onoj u opštoj populaciji pacijenata sa epilepsijom (McKnight et al., 2022), dok je u drugim poput Krenn i sar. gde je FRE bila jedan od inkluzionih kriterijuma, njihov broj bio daleko veći

(77%) (Krenn et al., 2020). Studija Xiong i sar. je uključila isključivo pacijente sa FRE, verovatno jer je ispitivala gene GATOR1 kompleksa kod kojih je bolesti često rezistentna na AEL (Xiong et al., 2019). Šta više, *DEPDC5* je identifikovan kao potencijalni genetski činilac u nastanku FRE kod pacijenata sa NAFE (Wolking et al., 2021). U našem istraživanju je su svi pacijenti, izuzev četiri pacijenta sa novodijagnostikovanom epilepsijom, zadovoljavali ILAE kriterijume za FRE (Kwan et al., 2010), sa prosečno 5,2 terapijska pokušaja sa različitim lekovima (Tabela 36), verovatno zato što je FRE bila primarna indikacija za ispitivanje u okviru našeg centra.

U ispitivanoj grupi pacijenata su kod 17,7% identifikovani febrilni napadi, a kod 15,6% minorna povreda glave koja je prethodila pojavi epilepsije. U drugim kohortama nije izučavan značaj ovih predisponirajućih faktora za nastanak epilepsije, sem u jednoj je febrilne napade imalo 9% kohorte (Krenn et al., 2020).

Intelektualna onesposobljenost i usporen psihomotorni razvoj su čest podstrek za genetsko testiranje epilepsije u svakodnevnoj praksi kako kod dece (Srivastava et al., 2014), tako i u adultnoj populaciji (Devinsky et al., 2015). Zbog toga nije iznenađujuće da je velika proporcija pacijenata u kohortama genetski testiranih pacijenata sa epilepsijom imalo prateću IO koja je bila prisutna kod 7% do 22% pacijenata (J. Li et al., 2022; McKnight et al., 2022; Tsai et al., 2018), pogotovu u kohortama sa relativno velikom zastupljenošću epilepsije ranog početka, kao što je u slučaju studije McKnight i sar. Naša studija je kao ekskluzioni kriterijum imala umerenu ili tešku IO (Poglavlje 3.3.1). Time smo, poput drugih autora (Krenn et al., 2020; Perucca et al., 2017b), obezbedili isključivanje obolelih od epilepsije koja se javlja u sklopu multisistemskih oboljenja, drugih neuroloških bolesti, kao i onih obolelih od D/EE od detinjstva jer su fokus našeg istraživanja bili pacijenti sa tzv. *nesindromskom epilepsijom*, koji su ujedno i najčešći pacijenti u okviru epileptoloških centara.

Shodno svemu navedenom, naša grupa ispitanika je bila u velikoj meri konkordantna sa kohortama u prethodnim sličnim istraživanjima te su na naši rezultati u tom smislu uporedivi sa onim iz ranijih publikacija.

Specifičnost genetike u epilepsiji se sastoji u velikoj genotipsko-fenotipskoj heterogenosti, zbog koje je uprkos mnoštvu dokaza koji govore u prilog njenoj genetskoj osnovi, genetsko otkriće u epileptologiji kasnilo u odnosu na druge slične bolesti. Sekvenciranje nove generacije je pristupačna metoda koja je omogućila relativnu neselektivnost u odabiru gena kao i pacijenata uključenih u ispitivanje, zbog čega je bila dostupna u širokom rasponu kliničkih scenarija. Time je omogućeno otkriće prethodno neočekivanih korelacije i varijacija. Naime, kod gena uključenih u nastanak epilepsije je pokazana velika fenotipska varijabilnost, kako u rasponu različitih varijanti u okviru istog gena, tako i u kliničkoj ekspresiji istih varijanti koje u oba slučaja rezultuju heterogenim kliničkim konsekvencama. Isto tako, jedan fenotipski entitet može biti povezan sa varijantama u velikom broju različitih gena. Drugim rečima, kod najvećeg broja pacijenta sa FE fenotipske karakteristike nisu dovoljne za precizno predviđanje ni gena ni tipa genetskih varijanti, zbog čega je često neophodno sprovesti istovremeno sekvenciranje velikog broja gena. Stoga nije iznenađenje da su studije koje su ispitivale prinos različitih pristupa sekvenciranju uglavnom pokazivale veći prinos WES u odnosu na genske panele sa ograničenim brojem gena (Sheidley et al., 2022), mada u nekim razlikama nije bila dramatična (Stefanski et al., 2021). Ipak WES ima brojna ograničenja koja obuhvataju dugo čekanje rezultata, čestu pojavu incidentalnih nalaza nejasnog kliničkog značaja kao i visoke troškovi testiranja uprkos dobrom odnosu troška i benefita u odnosu na ranije korišćene metode (Sánchez Fernández et al., 2019). Zbog toga je strategija formulacije panela specifičnih za određenu populaciju pacijenata verovatno opcija sa optimalnom isplativošću (Ream and Patel, 2015). Tako je pionirska studija Lemke i sar. pokazala da se upotrebom panela sa velikim brojem gena kod obolelih od FRE može postaviti molekularna dijagnoza kod blizu polovine pacijenata (Lemke et al., 2012).

Tokom poslednje decenije je objavljen veliki broj NGS studija u epilepsiji, međutim fokus većine od njih su bili pedijatrijski pacijenti, oboleli od epileptičkih encefalopatija ili pacijenti sa udruženom IO. Prvi veliki iskorak u čestim FE je napravljen studijom Epi4K Konzorcijuma i EPGP (Epi4K/EPGP) kojom je ustanovljena statistički značajno opterećenje *DEPDC5* ultra-retkim varijantama kod obolelih od familijarne NAFE, dok su naredna četiri gena najopterećenija gena bili redom *LGII*, *PCDH19*, *SCN1A* i *GRIN2A* (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Među ciljevima naše studije je bilo utvrđivanje prinosa sekvenciranja ovim setom gena u dominantno adultnoj grupi pacijenata bolesnika sa NAFE i kliničkim indikacija sa genetsko testiranje. Ovako konstruisan genetski panel je u našem istraživanju imao dijagnostički prinos od 6,2% (6/96 pacijenata), koji je porastao na 7,3% (7/96) kada su panelu dodata preostala dva gena koja sa *DEPDC5* kodiraju subjediniče GATOR1 kompleksa, *NPRL2* i *NPRL3*. Dodatna dva pacijenta su bili nosioci VUS (jedan u *GRIN2A*, drugi u *NPRL3*), dok je jedan pacijent bio nosilac verovatno benigne varijante u *GRIN2A*.

Velika meta analiza je pokazala da je prosečan prinos testiranja genskim panelima u FE iznosio 7%, kao i da je prinos rastao sa brojem uključenih gena (Sheidley et al., 2022). Studija McKnight i sar. do sada najveća analiza upotrebe genskog sekvenciranja kod adultnih pacijenata sa varijabilnim fenotipom je pokazala porast prinosa sa uključivanjem većeg broja gena u testiranje, ali ova razlika nije bila statistički značajna (McKnight et al., 2022). Ukupni dijagnostički prinos u ovoj studiji je iznosio svega 10,9% iako je 1,6% pacijenata bilo testirano panelom manjim od 100 gena. Druga slična studija u Kanadi je našla još skromnije rezultate sa dijagnostičkim prinosom od svega 4,3% (J. Li et al., 2022). Međutim, ove studije ne uzimaju u obzir individualne karakteristike pacijenata i primerenost selektovanih panela njihovoj kliničkoj slici.

Dve studije sa manjim panelima koje su obuhvatile dominantno pacijente sa FE su takođe pokazale manji prinos u odnosu na našu studiju iako su korišćeni paneli od 11 odnosno 21 gena koji su obuhvatali sve gene uključene u našu studiju izuzev *NPRL2* i *NPRL3*. Hildebrand i sar. su uključili 251 pacijenta sa NAFE među kojima je slično našem istraživanju 20% obolelih imalo pozitivnu porodičnu anamnezu kod prvostepenih srodnika (Hildebrand et al., 2016). Autori su pokazali patogene varijante kod svega dva (0,8%) pacijenta, iako je korišćen panel od 11 gena. Međutim, važno je napomenuti da su iz kohorte u ovoj studiji isključena četiri pacijenta sa prethodno postavljenom genetskom dijagnozom i koji su za potrebe studije korišćeni kao pozitivne kontrole. Šta više, u ovoj studiji je detektovano još devet varijanti među ispitivanim genima od kojih je čak 8 bilo klasifikovano kao VUS. S obzirom na nova saznanja o fenotipsko-genotipskim korelacijama koja su akumulirana od objavljivanja ove studije mogla, neke od ovih varijanti bi mogle biti reklasifikovane kao verovatno patogene. U studiju Tsai i sar. je bio uključen značajno manji broj obolelih sa pozitivnom porodičnom anamnezom, čime autori objašnjavaju relativno mali prinos koji je iznosio 1,26% kod obolelih od FE bez IO (Tsai et al., 2018). Naime, u populaciji pacijenata sa pozitivnom porodičnom anamnezom je dijagnostički prinos u ovoj studiji bio značajno veći i iznosio je 4%. Ovo objašnjenje je podržano i malim prinos sekvenciranja koji je pokazan u grupi pacijenata sa sporadičnom FRE kod kojih su sekvencirani geni GATOR1 kompleksa (Xiong et al., 2019). Nasuprot tome, u studiji Perucca i sar. koja je uključila isključivo pacijente sa pozitivnom porodičnom anamnezom kod srodnika do II stepena srodstva, dijagnostički prinos analize sekvenciranja 64 gena je bio čak 12,5% (Perucca et al., 2017b). Međutim u našoj studiji nije pronađena statistički značajna razlika u detekciji varijanti između pacijenata sa pozitivnom i onih sa negativnom porodičnom anamnezom pri analizi svih sedam gena, kao ni pri analizi pet gena definisanih u Epi4K/EPGP bez *NPRL2* i *NPRL3*, što se možda može objasniti relativno malim uzorkom pacijenata, mada je ta razlika izostala i u većim studijama (McKnight et al., 2022).

Moguće je da se mali dijagnostički prinos u prethodnim studijama može barem delimično objasniti i relativno neselektivnom inkluzijom pacijenata. Nasuprot njihovim skromnim rezultatima, u jednoj novijoj studiji je pri analizi svega 15 gena pokazana dijagnostički prinos od 8% (Krenn et al., 2020). Ova studija je imala veliki broj sličnosti sa našom u pogledu pre svega selekcije pacijenata. Inkluzioni kriterijumu u studiji Krenn i sar. su podrazumevali pozitivnu porodičnu anamnezu kod jednog

prvostepenog ili dva drugostepena srodnika, početak bolesti pre navršene 25. godine ili FRE. Slično tome, u našem istraživanju su gotovo svi pacijenti imali FRE, 2/3 ih je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu (oko 1/3 ako se koriste kriterijumi Krenn i sar) i svi su imali početak bolesti pre navršene 40. godine. Šta više, naša studija je poput Krenn i sar, koristila moderan algoritam za inotaciju i klasifikaciju varijanti formulisan od strane Borad instituta, koji je aktuelan istraživački standard u ovom polju čime je obezbeđena optimalna interpretacija dobijenih rezultata (Auwera and O'Connor, 2020).

Među nosiocima varijanti u našoj studiji je bilo statistički značajno više obolelih od ETLE, što se održavalo i kada je posmatrano svih sedam gena (Tabela 39) i kada su sagledani samo geni definisani Epi4K/EPGP studijom (Tabela 40), što je bilo istovetno rezultatima Krenn i sar. gde je 53% nosilaca varijanti imalo ETLE, a svega 31% TLE, iako je TLE bio najčešći lobarni sindrom u obe studije. Ovo sugerise da mnogi geni često uključeni u nastanak NAFE nemaju predilekciju za izazivanje TLE, što je podržano i rezultatima Striano i sar. koji su našli varijante u *DEPDC5* u samo jednoj od 45 familija sa TLE (Striano et al., 2015).

Pri poređenju naših rezultata sa onim u prethodnim studijama je posebno interesantno da se slična grupa gena iznova izdvaja u većini studija koje su bile fokusirane na adultne pacijente sa FE (Tabela 42). Među šest gena u kojima su identifikovane patogene varijante u studiji Krenn i sar, tri su takođe imala verovatno patogene varijante i u našem istraživanju (*DEPDC5*, *SCN1A*, *PCDH19*), dok je u još jednom detektovana VUS (*NPRL3*). Slično možemo primetiti pri analizi rezultata Perruca-e i sar. u čijoj studiji su među pet gena sa patogenim varijantama, četiri (*DEPDC5*, *SCN1A*, *PCDH19*, *NPRL2*) imala verovatno patogene varijante i u našem istraživanju. To sugerise da se u dobro selektovanoj grupi pacijenata sa FE verovatno može postići zadovoljavajući prinos upotrebom malog vrlo malog seta gena.

Ovakav pristup bi omogućio postavljanje genetske dijagnoze kod značajnog dela pacijenata sa čestom bolešću uz minimizaciju troškova. Posebno je važno istaći da se smanjenjem broja gena uključenih u panel može obezbediti velika dubina čitanja bez značajne promene cene testiranja, što je izuzetno važno jer zadovoljavajući kvalitet sekvenciranja pomoću NGS ne zahteva validaciju rezultata dodatnim direktnim sekvenciranjem pomoću Sanger sekvencatora (Arteche-López et al., 2021), što dodatno umanjuje troškove i vreme potrebno za izdavanje rezultata. Ovo je podržano i rezultatima Hildebrand i sar. koji su primenom panela velike dubine čitanja validirali prethodno dobijene rezultate direktnog sekvenciranja kod četiri pacijenata. Našim protokolom je obezbeđena pokrivenost preko 99% sekvence na dubini čitanja od 100x, što predstavlja sekvenciranje velike dubine i daleko prevazilazi kriterijume postavljene od strane Arteche- López i sar. čime je obezbeđena visok kvalitet izdvojenih varijanti.

Tokom 2013. godine, u istom broju časopisa *Nature Genetics* su objavljena dva rada koja opisuju povezanost FFEVF sa patogenim varijantama u *DEPDC5* genu, koji do tada nije bio prepoznat kao gen u epilepsiji. Dibbens i sar. su pokazali *DEPDC5* varijante u dve velike multiple familije, a potom i pet od šest prethodno opisanih familija sa ovim sindromom, kao i kod 10 od 82 porodica koje su bile suviše male za postavljanje dijagnoze ovog sindroma (Dibbens et al., 2013). Istovremeno, Ishida i sar. su pokazali varijante u *DEPDC5* genu u jednoj FFEVF multiploj familiji, a potom i kod pet od 15 familija sa sindromski nedefinisanim fokalnom epilepsijom (Ishida et al., 2013). Iste godine je treća publikacija opisala funkciju GATOR1 kompleksa proteina, koji se sastoji od tri subjedinice, *DEPDC5*, *NPRL2* i *NPRL3* (Bar-Peled et al., 2013). Tri godine kasnije, Ricos i sar. su opisali i varijante u *NPRL2* i *NPRL3* genima kod pacijenata sa FE pri čemu su GATOR1 geni etablirani kao najčešći genetski izazivači FE (Ricos et al., 2016). Zvezda je rođena!

*DEPDC5* (Tabela 43) se nalazi na kratkom kraku 22. hromozoma i sastoji se od 43 egzona i dužine je 151 kb (Baulac and Weckhuysen, 2016). On kodira protein *DEPDC5* koji se sastoji od 1603 aminokiseline i sadrži pet domena. N – terminalni domen (NTD), SABA (eng. structural axis for binding arrangement) domen, SHEN (eng. steric hindrance for enhancement of nucleotidase activity) domen, DEP

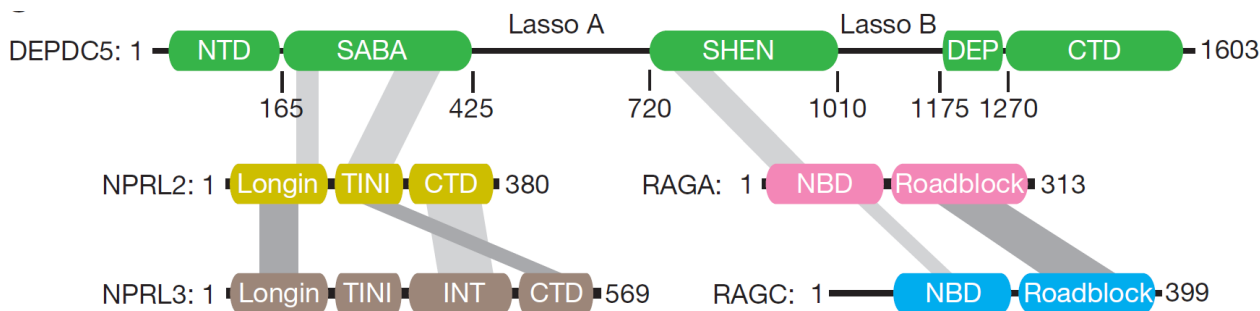
(Dishevelled, Egl-10, and Pleckstrin) i C – terminalni domen (CTD) (Slika 78). Funkcionalno najznačajniji domen je SABA, ranije označen kao DUF3608 (eng. *domain of unknown function 3608*). Ovaj domen je evolutivno visokokonzerviran i mesto je vezivanja sa Nprl2-Nprl3 heterodimerom. Drugi funkcionalno važan domen je SHEN pomoću kojeg se DEPDC5 RAGA-RAGC heterodimer (Shen et al., 2018).

Tabela 43 Molekularno-genetičke karakteristike *GATOR1* gena

	<i>DEPDC5</i>		<i>NPRL2</i>		<i>NPRL3</i>	
OMIM	*614191		*607072		*600928	
Citogenetska lokacija	22q12.2-q12.3		3p21.31		16p13.3	
Dužina gena	154 kb		3,5 kb		54 kb	
Dužina transkripta	5551 nt		1700 nt		2881 nt	
Broj egzona	43		11		14	
Oznaka proteina	DEPDC5		Nprl2		Nprl3	
Veličina proteina	1603 AK, 181 kDa		380 AK, 44 kDa		569 AK, 64 kDa	
<b>Proteinski domen</b>	<b>Ime</b>	<b>Funkcija</b>	<b>Ime</b>	<b>Funkcija</b>	<b>Ime</b>	<b>Funkcija</b>
	<b>NTD</b>		<b>Longin</b>	Vezivanje za Longin domen Nprl3	<b>Longin</b>	Vezivanje za Longin domen Nprl2
	<b>SABA domen</b>	Vezivanje za Nprl2-Nprl3 heterodimer	<b>TINI domen</b>	Vezivanje za SABA domen DEPDC5 i CTD Nprl3	<b>TINI domen</b>	
	<b>SHEN domen</b>	Vezivanje za RAGA-RAGC heterodimer	<b>CTD</b>	Vezivanje za INT domen Nprl3	<b>INT domen</b>	Vezivanje za CTD domen Nprl2
	<b>DEP domen</b>				<b>CTD</b>	Vezivanje za TINI domen Nprl2
	<b>CTD</b>					

OMIM – eng. *Online Mendelian Inheritance in Man*; NTD – N-terminalni domen; SABA – eng. *structural axis for binding arrangement*; SHEN – eng. *steric hindrance for enhancement of nucleotidase activity*; DEP – eng. *Dishevelled, Egl-10, and Pleckstrin*; CTD – C-terminalni domen; TINI – eng. *tiny intermediary of NPRL2 that interacts*; INT – intermedijerni; SABA – eng. *structural axis for binding arrangement*; CTD – C-terminalni domen; kb – kilobaza; nt – nukleotida; AK – aminokiselina, kDa – kilodalton

*NPRL2* gen (Tabela 43) se nalazi na dugom kraku trećeg hromozoma i kodira protein Nprl2 dužine 380 aminokiselina koji sadrži tri domena. (Lerman and Minna, 2000). *NPRL3* gen se nalazi na dugom kraku 16. hromozoma (Vyas et al., 1995) i kodira protein Nprl3 koji ima četiri domena, od kojih su 3 homologa sa istoimenim Nprl2 domenima (Slika 78) (Shen et al., 2018). Longin domen se nalazi na N terminalnom kraju oba proteina i služi njihovoj međusobnoj heterodimerizaciji. TINI (eng. *tiny intermediary of Nprl2 that interacts*) domen omogućava vezivanje za SABA domen DEPDC5 i CTD Nprl3. Homologni domen postoji i u okviru Nprl3 proteina čija funkcija nije u potpunosti razjašnjena. Nprl3 sadrži i intermedijerni (INT) domen koji služi za vezivanje za CTD Nprl2 i već pomenuti CTD koji se vezuje sa TINI domen Nprl2 (Shen et al., 2018).



Slika 78 Shematska reprezentacija proteinskih domena subjedinica GATOR1 kompleksa, adaptirano iz Shen et al., 2018

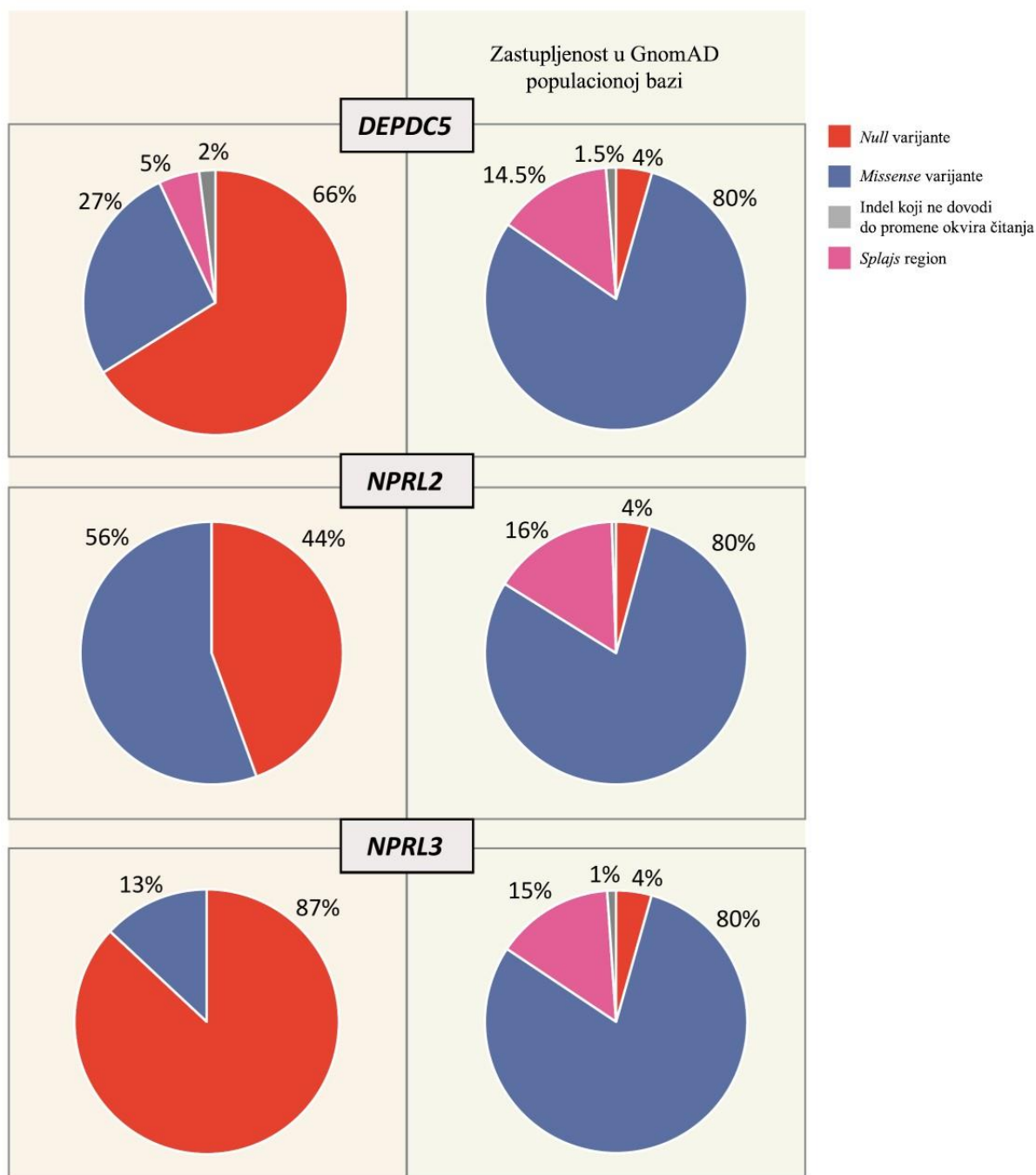
Kao što je spominjano u prethodnim poglavljima (Poglavlje 1.4.3), GATOR1 je proteinski kompleks koji pripada mTOR signalnom putu, koji deluje kao negativni regulator funkcije mTORC1 kompleksa. Visoke koncentracije aminokiselina u citosolu inhibiraju aktivnost GATOR1 kompleksa, čime dovode do dezinhibicije mTORC1 (Dibbens et al., 2013). Gubitak funkcije GATOR1 subjedinica dovodi do neosetljivosti mTORC1 na nedostatak aminokiselina i posledične konstitutivne mTORC1 aktivacije, ali nasuprot disfunkciji *TSC1* i *TSC2* u TSC, varijante u GATOR1 genima se ispoljavaju samo u moždanom tkivu (Ribierre and Baulac, 2016). Disregulacija mTOR signalizacije je povezana sa poremećajem embrionalne neurogeneze (Cloëtta et al., 2013) kao i neuronalne signalizacije (Parker et al., 2013), što leži u osnovi epileptogeneze u ovim bolestima.

Patogene varijante u GATOR1 genima dovode do delimičnog ili potpunog gubitaka funkcije njihovog proteinskog produkta, odnosno ostvaruju svoj efekat LOF mehanizmom. *Nonsense*-posredovana degradacija RNK je dokazana kod varijanti u ovim genima, čime je haploinsuficijencija implicitno potvrđena kao patogeni mehanizam koji dovodi do mTORC1 disregulacije kod GATOR1 poremećaja (Ishida et al., 2013; Picard et al., 2014; Weckhuysen et al., 2016). U našem istraživanju su detektovane dve nove *frameshift* varijante koje kao rezultat daju prevremenim terminacioni kodon. Nijedna nije prethodno zabeležena u populacionoj bazi GnomAD ili ClinVar registru klinički relevantnih varijanti (Tabela 37). Prva je delecija 11 nukleotida u egzonu osam *DEPDC5* gena (c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3) koji korespondira NTD DEPDC5 proteina. Druga je insercija 5 nukleotida u egzonu tri *NPRL2* gena (c.197\_198insAATAA, p.Cys67IlefsTer45) koji korespondira Longin domenu Nprl2 proteina. U oba slučaja se varijante nalaze u proksimalnom delu polipeptidnog lanca te se predviđa da dovode do nefunkcionalnog proteina ili njegovog potpunog odsustva i posledične haploinsuficijencije. U najvećoj seriji od 73 pacijenta sa varijantama u GATOR1 genima pokazano je da su *nonsense* ili *frameshift* varijante daleko najčešće povezane sa bolešću, nasuprot onim koje su detektovane u populacionoj bazi GnomAD (Slika 79) (Baldassari et al., 2019a). U ovoj studiji je pokazano da su *nonsense* ili *frameshift* varijante u *DEPDC5* ili *NPRL2* genima statistički značajno češće u epilepsiji u odnosu na opštu populaciju, te da je njihovo prisustvo u populacionim bazama najpre posledica redukovane penetrantnosti ili blage kliničke prezentacije koja je i opisana u okviru porodica obolelih sa od epilepsije povezane sa genima GATOR1 kompleksa (Baulac et al., 2015).

Baldassari i sar. procenjuju da zastupljenost 0,03% u GnomAD bazi odgovara očekivanoj populacionoj zastupljenosti obolelih od epilepsije uzrokovane GATOR1 genima, te da se varijante u ovom genima manje zastupljenosti su ispod učestalosti koja se očekuje za benigne varijante i ne mogu se odbaciti kao benigne na osnovu zastupljenosti u opštoj populaciji. Shodno tome, definišu da se *DEPDC5* varijante koje su u GnomAD-u prisutne do šest puta, *NPRL2* do tri puta za i *NPRL3* varijante do četiri puta mogu smatrati patogenim, ukoliko su zadovoljeni drugi kriterijumi patogenosti (Baldassari et al., 2019a). Kako su obe registrovane *frameshift* varijante u ispitivanoj grupi pacijenata u našoj studiji nove i nisu prisutne u GnomAD-u, one bi prema kriterijumima Baldassari i sar. bile klasifikovane kao patogene. U našoj studiji su korišćeni stroži ACMG-AMP kriterijumi, prema kojim su one klasifikovane

kao verovatno patogene (PSV1, PM2), što ne menja klinički značaj dobijenih rezultata kako se prema preporukama ACMG-AMP obe kategorije smatraju dijagnostički značajnim (Richards et al., 2015).

Rekurentne varijante u GATOR1 genima nisu retke i nađene su kod 13% kohorte Baldassari i sar. (Baldassari et al., 2019a). Iako su sve GATOR1 varijante detektovane u našem istraživanju nove, *DEPDC5* c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3 deli genetsku lokaciju sa prethodno opisanom *DEPDC5* c.422\_423insCTGG, p.Gly142Trpfs\*3 kod pacijenta sa WS (Baldassari et al., 2019a), što sugerira da je moguće da se radi o predilekcionom mestu za varijante, tzv. mutacionoj vrućoj tački (eng. *mutational hot-spot*).



Slika 79 Zastupljenost različitih tipova varijanti u GATOR1 genima kod bolesnika sa epilepsijom i populacionoj bazi GnomAD adaptirano iz Baldassari et al., 2019a



Jedna varijanta detektovana u našem istraživanju je bila *splice-site* varijanta lokalizovana u 18. intronu *DEPDC5* (c.1287+2T>G) (Tabela 37). Ovo je relativno redak mehanizam varijanti u ovom genu sa zastupljenošću od samo 4% u grupi pacijenata Baldassari i sar (Baldassari et al., 2019a). Kao i prethodne dve, ona nije nađena u populacionoj bazi GnomAD ili ClinVar registru i imala je SpliceAI skor od 1, što označava visoku verovatnoću njenog poremećaja splajsinga uzrokovanog ovom varijantom. Baldassari i sar. su u svom dijagnostičkom algoritmu sugerisali da se varijante u splajs regionima mogu smatrati verovatno patogenim ukoliko im je zastupljenost u GnomAD-u gorepomenute, kao i ako se za njih pomoću HSF (eng. *Human Splice Finder v3.0*) (Desmet et al., 2009) predvidi da imaju patogeni efekat. Kako je za *in silico* predikciju funkcionalnog ishoda u našoj studiji korišćen savremeni algoritam baziran na mašinskom učenju (Jaganathan et al., 2019), smatramo da su zadovoljeni kriterijumi za verovatno patogenost Baldassari i sar. kao i ACMG-AMP (PSV1, PM2) u okviru kojih se kanonične splajsogene varijante ne odvajaju od drugih *null* varijanti poput *frameshift* ili *nonsense* varijanti (Richards et al., 2015).

U prethodnim studijama je pokazano da patogene varijante u ovim genima nisu imale sklonost ka klasterovanju i da se mogu detektovati u svim delovima gena (Ricos et al., 2016). Ipak, preporuke ACMG-AMP savetuju oprez pri interpretaciji *null* varijanti koje zahvataju samo poslednji egzon (Richards et al., 2015). Kako su sve *null* varijante detektovane u ovoj grupi gena kod naših pacijenata lokalizovane u proksimalnim segmentima gena, mogućnost izostanka njihovog patogenog efekta je mala i može se odbaciti.

Najveću dilemu u interpretaciji patogenosti nameću *missense* varijante, koje čine 31% varijanti kod obolelih od epilepsije, ali čak 80% varijanti detektovanih u GnomAD (Slika 79) (Baldassari et al., 2019a). Velika ograničenja su nametnuta odsustvom odgovarajućih rezultata iz funkcionalnih studija u kojima se kod *missense* varijanti u *GATOR1* genima tipično ne opserviraju funkcionalne promene (van Kranenburg et al., 2015). Šta više, Baldassari i sar. su pokazali da se čak 64% *missense* varijanti nasleđuje od zdravog roditelja, zbog čega je kosegregacija patogenih varijanti kod obolelih u okviru porodica malo verovatna, kao i ređu pojavu rekurentnih *missense* varijanti u odnosu na *null* varijante (Baldassari et al., 2019a). Zbog toga se većina studija u proceni patogenosti ovih varijanti oslanja na *in silico* predikciju koja podrazumeva primenu informatičkih algoritama koji procenjuju efekata varijante na nivou nukleotida, transkripta, i funkciju proteina. Ova procena je bazirana na evolutivnom konzervacionizmu, lokaciji u okviru proteina i konsekvenci aminokiselinske supstitucije. Da bi se *in silico* predikcija koristila kao kriterijum za klasifikaciju varijante mora postojati konkordantnost rezultata predikcije bazirane na različitim principima. Ukoliko različiti algoritmi daju različita predviđanja ovaj kriterijum se prema preporukama ACMG-AMP odbacuje (Richards et al., 2015). Međutim, od uvođenja ovih kriterijuma je razvijen veliki broj savremenih algoritama koji su bazirani na mašinskom učenju i objedinjuju više prostijih prediktivnih skorova. U našoj studiji su korišćena tri takva algoritma za procenu patogenosti *missense* varijanti, a anotacija varijante kao štetne od strane bilo kojeg je bio kriterijum za razmatranje varijante kao VOI (Poglavlje 3.3.2.3.3.3).

U ispitivanoj grupi pacijenata je detektovana jedna *missense* varijanta u egzonu 13 *NPRL3* gena (c.1495C>T, p.Leu499Phe) koja korespondira INT domenu Nprl3 (Slika 78). S obzirom na to da od 76 patogenih varijanti opisanih u *NPRL3* je samo jedna bila *missense* varijanta, te da ovo nije čest mehanizam patogenosti u ovom genu, malo je verovatno da ova varijanta bitno doprinosi nastanku bolesti ("nprl3[gene] - ClinVar - NCBI," n.d.). Šta više, od tri korišćena *in silico* algoritma, kao patogenu ju je anotirao samo MetaRNN (Tabela 37). Međutim, s obzirom na to da su u našoj studiji korišćeni vrlo strogi pragovi za određivanje patogenosti od strane CADD i REVEL, kao i da se radi o novoj prethodne neregistrovanoj, samim tim i retkoj varijanti, kao i na to da je MetaRNN superioran u razlikovanju retkih patogenih od benignih varijanti u odnosu na druga dva korišćena *in silico* prediktora (C. Li et al., 2022) verujemo da se patogenost ove varijante u ovom trenutku ne može u potpunosti odbaciti.

Iako su varijante u ovim genima inicijalno opisane u retkom autozomno dominantnom sindromu, ubrzo je u okviru Epi4K/EPGP studije utvrđeno da je *DEPDC5* najznačajniji genetski činilac i kod NAFE pacijenata sa pozitivnom porodičnom anamnezom gde je su varijante u ovom genu nađene kod 3% pacijenata (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Zastupljenost patogenih varijanti u sva tri gena GATOR1 kompleksa u zavisnosti od kompozicije uzorka varira u rasponu od 0,52-11% pacijenata (Ricos et al., 2016; Weckhuysen et al., 2016; Xiong et al., 2019). U našoj studiji je ukupan dijagnostički prinos analize gena GATOR1 kompleksa iznosio 3,1% (3/96), dok su VUS detektovane kod 1,1% (1/96) pacijenata.

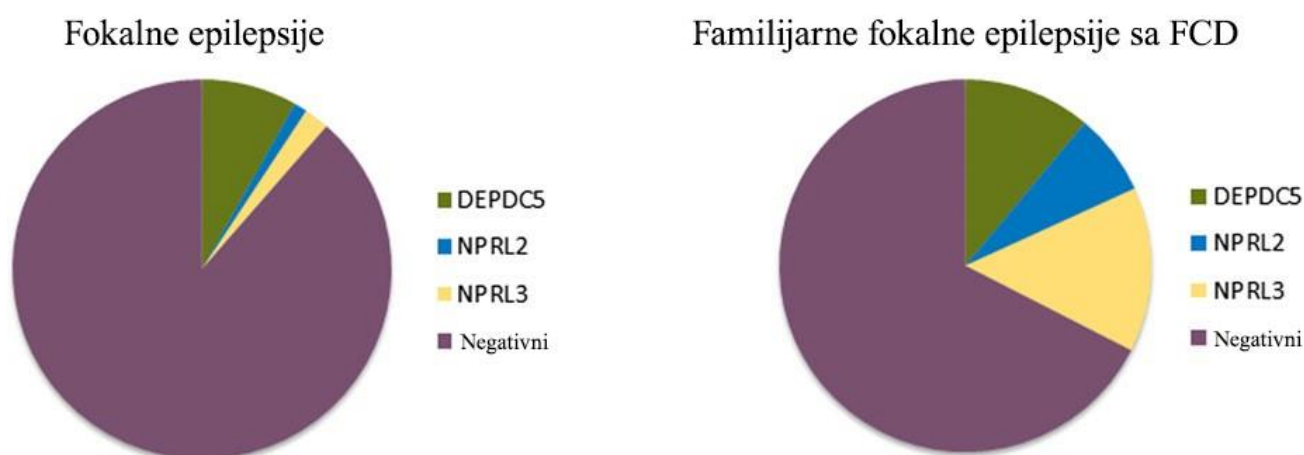
Najmanja učestalost patogenih varijanti u GATOR1 genima je registrovana u kohortama obolelih od sporadične fokalne epilepsije. U velikoj studiji Epi25 konzorcijuma koja je uključila preko 5000 pacijenata sa sporadičnom NAFE su *DEPDC5* varijante detektovane kod svega 0,2% kohorte (Epi25 Collaborative, 2019), naspram čemu su kod pacijenata sa familijarnom NAFE u već pomenutoj Epi4K/EPGP studiji one nađene kod 3% (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Ipak, pitanje familijarne pojave bolesti kod epilepsije povezane sa GATOR1 genima je komplikovano redukovanom penetrantnošću, i dok su varijante kod čak 96% pacijenata u grupi pacijenata Baldassari i sar. nasleđene od roditelja, 64% roditelja koji su bili nosioci varijanti je bilo zdravo (Baldassari et al., 2019a). U jednoj manjoj seriji pacijenata je pokazano da nosioci nasleđenih varijanti imaju raniji početak bolesti i težu kliničku sliku od obolelih roditelja, te je moguće da svojevrsni fenomen anticipacije može delimično objasniti odsustvo simptoma kod nekih roditelja (Benova et al., 2021). U našoj studiji nije registrovana razlika u učestalosti nosilaca varijanti između pacijenata sa i onih bez pozitivne porodične anamneze, iako je samo jedna pacijentkinja među nosiocima varijanti imala negativnu porodičnu anamnezu. Pacijentkinja 2 je nosilac splajsogene varijante u *DEPDC5* genu i nema obolelih srodnika, te s obzirom na to da se radi o SNV koje su u ovim genima najređe bile nasledne (Baldassari et al., 2019a), moguće je da se radi o de novo varijanti, ali i varijanti niske penetrantnosti. Pogotovu je važno uzeti u obzir validnost porodične anamneze, s obzirom na to da je pokazana jasna korelacija percipirane stigmatizacije kod obolelih od epilepsije i postavljanja genetske dijagnoze (Sabatello et al., 2015), kao i na njenu relativnu nepreciznost kada su u pitanju stariji srodnici (Ottman et al., 2011). Pacijentkinja 1 je prema medicinskoj dokumentaciji je imala srodnika manjeg stepena srodstva od III stepena te je pri inicijalnoj proceni svrstana u grupu pacijenata bez pozitivne porodične anamneze. Tek po njenom uključivanju u ispitivanje je dobijen podatak o velikom broju obolelih bliskih članova porodice (Slika 55).

Jedna kineska studija koja je uključila 193 pacijenta sa sporadičnom FE od kojih su svi bolovali od FRE je registrovala patogene varijante kod 0,52% i VUS kod dodatnih 1,04% kohorte (Xiong et al., 2019), što sugerise da farmakorezistencija možda utiče na učestalost GATOR1 varijanti čak i u populacijama pacijenata sa sporadičnom epilepsijom. Kako je ranije spomenuto, varijante u *DEPDC5* su pokazane kao mogući genetski marker farmakorezistencije (Wolking et al., 2021), dok je u studiji Baldassari i sar. farmakorezistencija pokazna kod preko polovine nosilaca varijanti, dok je ona bila posebno visoka u grupi pacijenata koji fenotipski odgovaraju SHE i iznosila je 65% (Baldassari et al., 2019a). Slično je pokazano i drugim manjim studijama sa pacijentima sa SHE (Picard et al., 2014). Među našim pacijentima, pacijentkinja 1, koja je nosilac varijante *DEPDC5* c.422\_432del, p.Ala141ValfsTer3, fenotipski odgovara SHE, ali uprkos većem broju obolelih srodnika, zbog nedovoljno podataka o fenotipu kod članova porodice nije bilo moguće postaviti dijagnozu ADSHE (Tabela 38). Kako je imala terapijski neuspeh sa 8 AEL, njena bolest zadovoljava ILAE kriterijume za FRE (Kwan et al., 2010), što je u skladu sa opisanim rezultatima iz prethodnih studija. Gotovo svi pacijenti u ispitivanoj grupi pacijenata su bili bolovali od FRE, uključujući sve nosioce varijanti u GATOR1 genima, čime se možda može delimično objasniti nešto veći ukupni prinos u našem istraživanju odnosu na druge slične studije (Hildebrand et al., 2016; Tsai et al., 2018), dok su studije koje su uključile više pacijenata sa FRE, poput naše imale veći prinos (Krenn et al., 2020). Među nosiocima varijanti u ispitivanoj grupi pacijenata je zabeležen veći broj terapijskih pokušaja sa različitim AEL u odnosu na ostatak kohorte ( $7,0 \pm 1,2$ , vs.  $5,1 \pm 2,1$ ,  $p = 0,053$ ), što je bilo na granici statističke značajnosti, što sugerise izraženu farmakorezistenciju ovih bolesnika.

Naši pacijenti su statistički značajno češće imali ETLE u odnosu na TLE (Tabela 41), što je u skladu i sa rezultatima prethodnih studija (Baldassari et al., 2019a; Moloney et al., 2021; Ricos et al., 2016). Najčešći sindrom opisan u više serija je SHE koja može biti i familijarna i sporadična i koja je po proceni jedne grupe autora prisutna kod i do 42% nosilaca varijanti u GATOR1 genima (Korenke et al., 2016; Moloney et al., 2021; Picard et al., 2014; Ricos et al., 2016). U našoj studiji je registrovana kod 1/3 pacijenta sa verovatnim patogenim varijantama, što je iznenađujuće često s obzirom na to da se radi o relativno retkom kliničkom entitetu sa prevalencijom od svega 2/100 000 (Vignatelli et al., 2015). Epilepsija temporalnog režnja je, kao što je prethodno pomenuto, relativno retka među nosiocima ovih varijanti, uprkos tome što je najčešći lobarni sindrom u FE (Krenn et al., 2020; Striano et al., 2015). U ovom segmentu je važno napomenuti da su infantilni spazmi česta fenotipska ekspresija varijanti u ovim genima koji su u grupi pacijenata Baldassari i sar. činili čak 10% kohorte i koji su često imali udruženu IO i psihijatrijske komorbiditete. Kako su fokus naše studije su bili pacijenti sa fokalnom epilepsijom bez IO i bez prethodne epileptičke encefalopatije, oni nisu zabeleženi u našem istraživanju.

Među čestim fenotipskim karakteristikama obolelih od epilepsije udružene sa GATOR1 varijantama je i učestala pojava SUDEP koji se u prethodnim studijama prijavljuje kod 12% obolelih i njihovih članova porodica (Baldassari et al., 2019a). U našoj studiji nisu zabeleženi slučajevi SUDEP kod nosilaca verovatno patogenih varijanti u ovim genima, niti kod njihovih srodnika. Interesantno je ipak da je deda pacijentkinje 4, koja je nosilac VUS u *NPRL3*, preminuo od mogućeg SUDEP, ali se to s obzirom na nejasan klinički značaj ove varijante ne može sa sigurnošću dovesti u vezu sa njom u ovom trenutku. Tačan mehanizam SUDEP kod ovih pacijenata nije razjašnjen, ali je moguće da je povećan rizik u vezi sa prisustvom brojnih faktora rizika za nastanak SUDEP kod ovih pacijenata, kao što su sklonost ka noćnim napadima, FRE i česti napadi sa evolucijom u bilateralne motorne napade (Samanta, 2022), što je pokazano i kod naših pacijenata (Tabela 40).

Najveći broj patogenih varijanti u GATOR1 genima je opisana u *DEPDC5* genu čiji udeo iznosi preko 2/3 (Baldassari et al., 2019a; Weckhuysen et al., 2016). To se verovatno može objasniti daleko većim transkriptom ovog gena u odnosu na preostala dva (Tabela 43, Slika 78). Međutim, Weckhuysen i sar. su analizirali kohortu 93 probanda od kojih je 14 imalo familijarnu epilepsiju udruženu sa FCD (Weckhuysen et al., 2016). Autori su pokazali da iako su *DEPDC5* varijante bile daleko najzastupljenije u ukupnoj grupi pacijenata, u grupi pacijenata sa familijarnom epilepsijom i FCD su dominirali pacijenti sa varijantama u druga dva gena, pogotovu *NPRL3* (Slika 80). Moguće je da germinativne varijante u ovim genima nose veći potencijal za nastanak MCD u odnosu na *DEPDC5*.

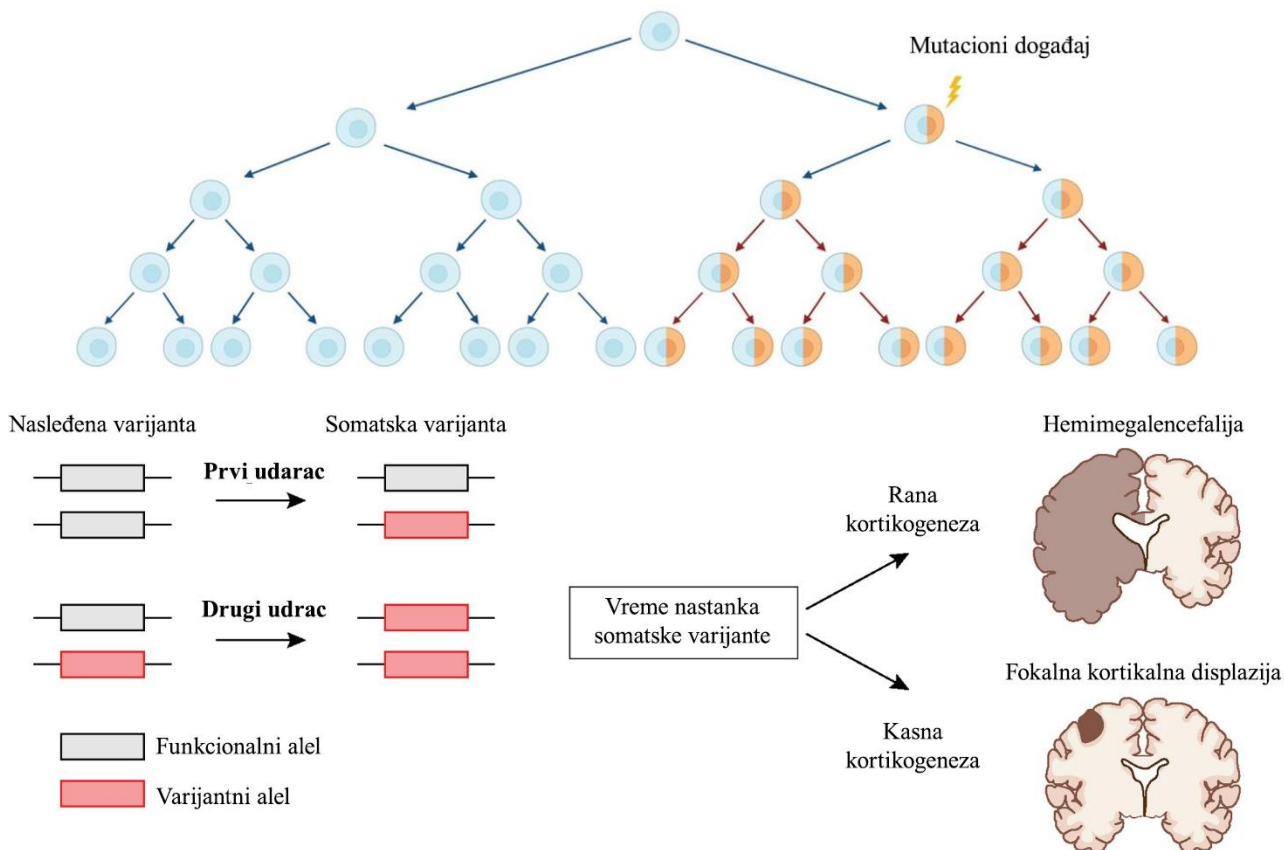


Slika 80 Zastupljenost patogenih varijanti u GATOR1 genima kod obolelih od FE i obolelih od familijarne FE sa FCD, adaptirano iz Weckhuysen et al., 2016

Približno četvrtina nosilaca varijanti u GATOR1 genima ima udružene MCD (Baldassari et al., 2019a; Moloney et al., 2021; Ricos et al., 2016; Weckhuysen et al., 2016), među kojima približno

polovinu čini FCD sem koje su opisane i hemimegalencefalija, subkortikalna heterotopija sive mase, hemisferna kortikalna displazija (Baldassari et al., 2019a) i polimikrogirija (Ricos et al., 2016). Šta više, učestalost GATOR1 varijanti je bila najveća u kohortama obolelih od familijarne epilepsije udružene sa FCD gde je iznosila 11% (Weckhuysen et al., 2016). Pitanje koje se međutim nameće je kako heterozigotna germinativna varijanta koja se nalazi u genomu svih moždanih ćelija može dovesti kortikalnih malformacija u malom ograničenom delu moždanog tkiva. Ova dilema je razrešena modelom *drugog udarca*, o kome je bilo reči u ranijim poglavljima (Poglavlje 1.4.3.2.3). Ukratko, u mnogim malformacijama kortikalnog razvoja su definisane somatske varijante u genima mTOR signalnog puta (Lai et al., 2022; López-Rivera et al., 2022). Varijanta koja nastaje ranije u toku embrionalnog razvoja može dovesti do opsežnijih, čak i hemisfernih malformacija, dok ona koja nastaje kasnije za posledicu ima male ograničene kortikalne lezije (Slika 81) (Deb and Bateup, 2021). One mogu biti izolovane ili se javiti kod nosilaca germinativnih varijanti GATOR1 gena (Sim et al., 2019). Kod jednog pacijenta je čak opisana udružena germinativna i somatska alelska *DEPDC5* varijanta u trans poziciji, što sugeriše da je bialelska genska inaktivacija mehanizam nastanka malformacija kod barem nekih pacijenata (Lee et al., 2019). Šta više, detaljnom analizom resektovanog moždanog tkiva je pokazano da tzv. *gradijent varijantne alelske frakcije* korelira sa citoarhitektonskim promenama u tkivu kao što je gradijent gustine dizmorfičnih neurona, kao i epileptogenošću (Baldassari et al., 2019b; Lee et al., 2020). Ipak, kod većine pacijenata nije detektovana sekundarna somatska varijanta (Sim et al., 2019), što sugeriše ili prisustvo somatskih varijanti ispod praga detektabilnosti trenutno dostupnim metodama, varijante drugog mehanizma nastanka kao što su CNV i intronske varijante ili da sekundarne somatske varijanti nisu neophodne za patogenezu epilepsije udružene sa varijantama u GATOR1 genima. Među našim pacijentima sa FCD nisu registrovane varijante u GATOR1 genima, iako su svi imali pozitivnu porodičnu anamnezu, verovatno zbog toga što su u studiju uključena svega četiri takva pacijenta. Ograničenje naše studije je u tome što analizi nisu bili dostupni tkivni preparati u kojima je moguće da bi bile detektibilne somatske varijante kod ovih pacijenata.

Nosioci *DEPDC5* varijanti u našoj studiji su imali NLFE, dok je pacijentkinja 3, koja je bila nosilac *NPRL2* varijante, imala TLE sa HS. Do trenutka izrade ove disertacije u literaturi nisu opisani slučajevi *NPRL2* varijanti udruženih sa epilepsijom i HS, iako su opisani retki slučajevi HS udruženi sa *DEPDC5* (Baldassari et al., 2019a; Xiong et al., 2019) i *NPRL3* varijantama (Sahly et al., 2023). Ova pacijentkinja je zbog farmakorezistentne epilepsije lečena anteriornom temporalnom lobektomijom sa amigdalohipokampektomijom nakon koje je BN tokom četiri godine od operacije. To sugeriše da je epileptogena zona kod nje bila upravo locirana u meziotemporalnim strukturama. Striano i sar. su opisali patogenu *DEPDC5* varijantu u jednoj od 17 familija sa familijarnom meziotemporalnom epilepsijom, što sugeriše da GATOR1 varijante, iako retko, mogu učestvovati u patogenezi ovog entiteta (Striano et al., 2015). Stoga patogenetski odnos detektovane *NPRL2* varijante i HS kod naše bolesnice u ovom trenutku ostaje nepotpuno razjašnjen. Sa druge strane, pacijentkinja 4 koja je nosilac VUS u *NPRL3* je takođe imala epilepsiju udruženu sa HS; mada su kod nje postojali klinički i radiološki znaci koji sugerišu epileptogenu zonu izvan temporalnog režnja. S obzirom na relativno retku zastupljenost HS među nosiocima varijanti, kod ove pacijenata se HS verovatno razvila kao sekundarna lezija, možda prouzrokovana napadima u okviru genetski determinisane bolesti (Walker, 2015) koja s obzirom na nejasan klinički značaj registrovane varijante, može biti povezana sa *NPRL3*, ali i nekim drugim genom.



Slika 81 Mehanizam nastanka somatskih varijanti i posledičnih malformacija kortikalnog razvoja; A – shematski prikaz klonalne ekspanzije nakon nastanka somatske varijante; B – model drugog udarca u kome postojanje udružene germinativne i somatske varijante dovode do nastanka malformacije Deb and Bateup, 2021; Gerasimenko et al., 2023

S obzirom na već pomenutu FRE kod pacijenata sa GATOR1 varijantama, posebnu pažnju poslednjih godina privlači njihov značaj u ishodu hirurškog lečenja pacijenata sa FRE. Nasuprot lošem ishodu koji je opserviran kod nosilaca varijanti u genima za jonske kanale (Stevellink et al., 2018), nosioci GATOR1 varijanti su imali mnogo optimističnije ishode kod kojih oko 60% pacijenata ima potpunu kontrolu napada ili samo epileptičke aure (Baldassari et al., 2019a; Sahly et al., 2023). Pogotovu dobar ishod su imali pacijenti sa udruženom FCD (Baulac et al., 2015). Neki autori su čak sugerisali uključivanje genetskog testiranja na GATOR1 gene u protokol prehirurške evaluacije jer bi otkriće varijanti možda dovelo do detekcije prethodno nezapažene suptilne MCD, kao i zbog toga što bi saznanje o genetskoj dijagnozi omogućilo razmatranje aleternativnih ili dopunskih terapijskih mogućnosti, poput upotrebe mTOR inhibitora kao što su everolimus (Moloney et al., 2021) ili sirolimus (Vawter-Lee et al., 2019). Među našim pacijentima ni kod jednog nosioca varijanti u GATOR1 genima nisu detektovane MCD uprkos primeni MR od 3 T sa 3D FLAIR kod pacijentkinje 1, iako je nalaz FDG-PET bio visokosugestivan za postojanje FCD (Slika 56). Kako je već pominjano, među nosiocima GATOR1 varijanti, pacijentkinja 3 je jedina hirurški lečena i tokom četvorogodišnjeg perioda praćenja ima potpunu kontrolu napada, što je u skladu sa pomenutim očekivanim dobrim hirurškim ishodom kod ovih pacijenata.

*SCN1A* gen je među prvim genima povezanim sa epilepsijom. Varijante u *SCN1A* su prvi put opisane 2000. godine u dve familije sa GEFS+ (Escayg et al., 2000). Od tada su varijante u ovom genu opisane kod širokog spektra epileptičnih sindroma (Ding et al., 2021), ali i drugih oboljenja CNS poput migrene (Dichgans et al., 2005) i PAS (Weiss et al., 2003).

Nalazi se na kratkom kraku drugog hromozoma (Tabela 44) u okviru klastera  $\alpha$  subjedinca natrijumskih kanala, zajedno sa *SCN2A* i *SCN3A* (Escayg and Goldin, 2010). sva tri gena kodiraju

voltažno zavisne natrijumske kanale koji dele 85% aminokiselinske sekvencije. *SCN1A* je evolutivno visokokonzerviran i deli ogranizaciju introna i egzona sa *SCN8A* genom koji se nalazi na kratkom kraku 12. hromozoma i s kojim verovatno deli gensko poreklo (Escayg et al., 2000).

*SCN1A* kodira voltažno zavisni natrijumski kanal, Nav1.1, koji se sastoji od četiri transmembranska homologa domena (D1-D4) koji su međusobno spojeni intracelularnim citoplazmatskim petljama (Slika 82). Svaki domen se sastoji od šest segmenata (S1-S6). Transmembranski domeni su međusobno spojeni citoplazmatskim petljama označenim kao *D-linkeri*. D3-D4 *linker* formira inaktivaciona vratanica. S4 segmenti sva četiri domena grade voltažni senzor, dok S5 i S6 segmenti zajedno sa petljom koja ih spaja grade poru kanala (Miller and Sotero de Menezes, 1993).

Tabela 44 Molekularno-genetičke karakteristike *SCN1A* gena

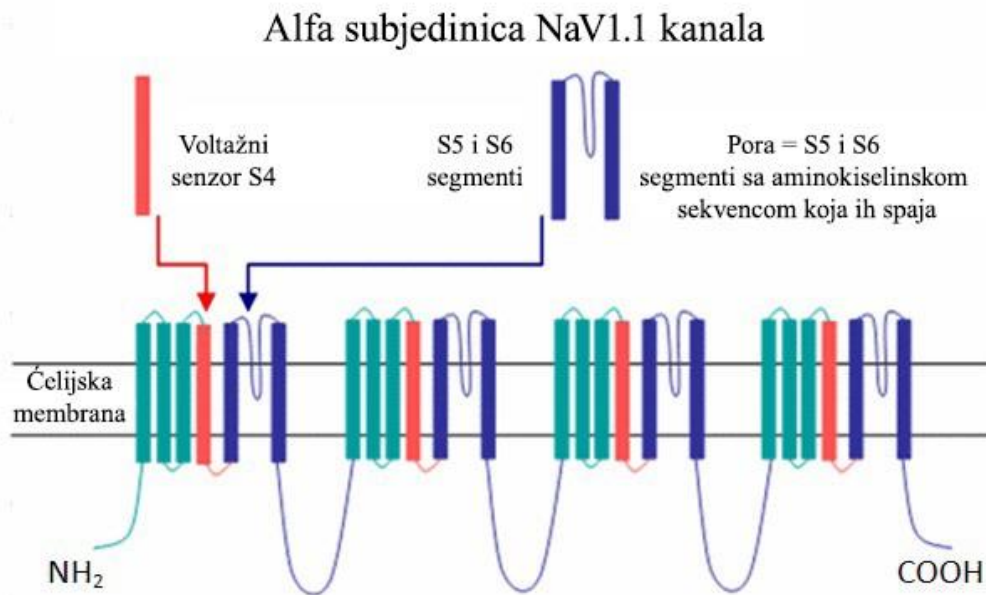
<b>SCN1A</b>		
OMIM	*182389	
Citogenetska lokacija	2q24.3	
Dužina gena	164 kb	
Broj egzona	29	
Oznaka proteina	Nav1.1	
Veličina proteina	2009 AK, 229 kDa	
Proteinski domeni	Segmenti	Funkcija
<b>CTD</b>		
<b>Domeni D1-D4</b>	S1	
	S2	
	S3	
	S4	Voltažni senzor
	S5	Pora
	S6	
<b>D1-D2 linker</b>		
<b>D2-D3 linker</b>		
<b>D3-D4 linker</b>		
Inaktivaciona vratanica		
<b>NTD</b>		

OMIM – eng. *Online Mendelian Inheritance in Man*; NTD – N-terminalni domen; CTD – C-terminalni domen; kb – kilobaza; AK – aminokiselina, kDa - kilodaltona

U bazi ClinVar je opisano preko 1200 patogenih i preko 500 verovatno patogenih varijanti u *SCN1A* genu, od kojih je 824 *null*, 821 *missense* varijanto, dok su preostale varijante po tipu CNV ili drugih većih genetskih rearanžmana (“*SCN1A*[gene] - ClinVar - NCBI,” n.d.).

Nav1.1 kanali su lokalizovani na somi, dendritima i inicijalnom segmentu aksona parvalbumin pozitivnih GABA-ergičkih inhibitornih neurona gde kontrolišu njihovu ekscitabilnosti (Escayg and Goldin, 2010). GABA receptori su ligand zavisni hloridni kanali koji po vezivanju GABA-e omogućavaju protok hloridnim jonima u smeru svog koncentracionog gradijenta koji se tokom razvoja menja. Rano tokom neuralnog razvoja, koncentracija hloridnih jona je veća u intracelularnoj u odnosu na ekstracelularnu tečnost, zbog čega GABA-ergička signalizacija dovodi do efluksa hloridnih jona iz neurona i depolarizacije membrane (Braat and Kooy, 2015). To dovodi do aktivacije kalcijumskih struja na čemu je bazirana trofička uloga GABA-ergičke signalizacije kojom ona posreduje u diferencijaciji neuronalnih progenitorskih ćelija, migraciji i diferencijaciji neurona (Mazzoleni and Bassani, 2021). Po rođenju dolazi do izmene koncentracionog gradijenta hloridnog jona čime GABA zauzima svoju poznatu inhibitornu ulogu (Valeeva et al., 2013). Poremećajem GABA-ergičkog upravljanja prenatalnim razvojem se obično objašnjava povezanost GABA-ergičke disfunkcije u brojnim neurorazvojnim i psihijatrijskim poremećajima koji su deo kliničkog fenotipa Dravet, Rett ili Prader-Willi sindroma, kao

i sindroma fragilnog X, dok se gubitkom inhibicije uglavnom objašnjava epilepsija, mada se međusobna interakcija konsekvenci ova dva procesa ne sme izgubiti iz vida.



Slika 82 Shematski prikaz strukture Nav1.1 kanala, adaptirano iz Miller and Sotero de Menezes, 1993

Funkcionalna konsekvencna varijanti je determinisana zahvaćenim domenom i očekivanom molekularno-biološkom posledicom, što dobro koreliše sa kliničkim fenotipom. *Null* varijante za posledicu uvek imaju LOF, dok *missense* varijante mogu imati varijabilan funkcionalni ishod. Na primer, one locirane u pori kanala dovode do LOF različitog stepena, dok one locirane u voltažnom senzoru mogu dovesti do mešovitog ishoda. Kod LOF varijanti je pokazana redukcija natrijumskih struja u GABA-ergičkim interneuronima, što za posledicu ima kortikalnu dezinhibiciju i posledičnu hiperekscitabilnost. Težina epileptičkog fenotipa u velikoj meri zavisi od stepena funkcionalnog oštećenja tako da su *missense* LOF varijante tipično povezane sa lakšom kliničkom slikom od *null* varijanti (Brunklaus et al., 2020).

Naspram tome, GOF varijante su do skoro bile povezane samo sa familijarnom hemiplegičnom migrenom tip 3 (Mantegazza and Cestèle, 2018). One su lokalizovane u funkcionalno manje osetljivim regionima proteina poput CTD ili S1-S3 segmenta (Kanai et al., 2004; Meng et al., 2015) ili D3-D4 linkera gde su obično su remetile inaktivaciju kanala (Brunklaus et al., 2022). Međutim, 2017. je opisana povezanost *SCN1A* GOF varijanti sa teškom D/EE (Sadleir et al., 2017), a nešto kasnije i *arthrogryphosis multiplex congenita* (Jaber et al., 2021). Brinklasu i sar. su opisali seriju 35 pacijenata sa spektrom različitih GOF fenotipa koji su svi podrazumevali D/EE ranog početka, delimičnu kontrolu napada primenom blokatora natrijumskih kanala i odsustvo preosetljivosti na hipertermiju (Brunklaus et al., 2022). Tipično za GOF fenotip su bili i refleksni napadi provocirani taktilnim ili auditornim senzacijama kao i širok spektar diskinezija. Na molekularnom nivou, ove GOF varijante su najčešće bile locirane u S4 segmentu i citoplazmatskoj petlji između S4 i S5, gde su uticale na aktivaciju kanala (Brunklaus et al., 2022).

U našoj studiji je detektovana jedna *frameshift* varijanta sa prevremenim terminacionim kodonom (c.2123\_2154dup, p.Ile719ProfsTer7), koja predstavlja lokalnu duplikaciju 32 nukleotida i koja nije prethodno opisana u literaturi niti registrovana u ClinVar ili GnomAD. Locirana je u egzonu 15 i korespondira D-linker regionu između D1 i D2 domena. Veći broj patogenih i verovatno patogenih varijanti je detektovana u ovom regionu u kojem nema registrovanih benignih *frameshift* varijanti u ClinVar-u ("SCN1A[gene] - ClinVar - NCBI," n.d.). S obzirom na to da se radi o proksimalnom delu

gena, njena očekivana posledica je nastanak nefunkcionalnog kanala usled nedostatka velikog dela peptida, kao što je pokazano za brojne varijante sa prevremenim terminacionim kodonom u ovoj regiji (Sugawara et al., 2003). Studija Zuberi i sar. je pokazala da je distribucija *null* varijanti relativno ravnomerna duž gena, sa izuzetkom poslednjeg egzona (Zuberi et al., 2011). Međutim, oprez je neophodan pri interpretaciji ovih rezultata jer je većina pacijenata u ovoj studiji (87%) imala DS ili DS-like fenotip. Jedna novija studija sa manje pacijenta od kojih je polovina imala blažu kliničku sliku je pak pokazala predilekciju za nastanak ovih varijanti u D-linker domenima (Chen et al., 2022), kao što je bio u slučaju u našoj studiji, mada značaj ovakvog nalaza nije jasan, s obzirom na to da je svakako predviđena molekularna posledica nefunkcionalni protein.

Većina obolelih sa varijantama u *SCN1A* genu je obolela od epileptičke encefalopatije, najčešće DS. U jednoj analizi registra sa 1727 nosilaca *SCN1A* varijanti, 1552 (90%) pacijenata je imalo tešku kliničku sliku koja obuhvata DS, DS-like sindrom i sindromski nedefinisane epileptičke encefalopatije, dok je svega 75 (4%) pacijenata imalo fenotip koji pripada kliničkom spektru GEFS+ (Meng et al., 2015). Svega 50 (3%) pacijenata u ovoj studiji je imalo kliničku sliku fokalne epilepsije sa ili bez febrilnih napada. Još manji broj pacijenata je registrovan Lossin-ovim pregledom u kome je NAFE zabeležena kod 4 od 359 nosilaca varijanti (Lossin, 2009). Međutim, poslednjih godina se sve više prepoznaje značajno učešće *SCN1A* varijanti u kohortama pacijenata sa FE u kojima je među najčešće identifikovanim genima (Tabela 42). Shodno tome je moguće da je velika zastupljenost teškog fenotipa u *SCN1A* kohortama posledica ranog prepoznavanja ovog gena kao čestog uzročnika ovih bolesti, čije varijante mogu biti detektovane kod 70-80% obolelih od DS (C. Depienne et al., 2009). Sa rastućom težnjom da se genetsko testiranje sprovodi kod bolesnika sa NAFE je moguće da će udeo FE u budućnosti biti sve veći, pogotovu ako se uzme u obzir da je 2% pacijenata sa familijarnom NAFE u Epi4K/EPGP grupi pacijenata imalo varijante u ovom genu (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Vrlo sličan udeo nosilaca *SCN1A* varijanti je registrovan i u našoj (2,1%), ali i drugim sličnim kohortama pacijenata sa NAFE (Krenn et al., 2020; Perucca et al., 2017b).

Do sada registrovane *SCN1A* varijante su često bile *de novo* (47,1%) i tipično su povezane sa teškim fenotipom (Claes et al., 2003), dok je samo kod 9,4% nasleđe potvrđeno (Meng et al., 2015). Naši pacijenti su imali obolele srodnike I i II stepena srodstva i relativno blagu kliničku sliku što je u skladu sa očekivanim za nasledne varijante, međutim, kako sekvenciranje kod srodnika nije bilo dostupno, njihova naslednost nije potvrđena. Oba pacijenta su bila nosioci iste varijante. S obzirom na to da je manje od 20% *SCN1A* varijanti rekurentno (Meng et al., 2015), kao i to da su oba pacijenta imala obolele srodnike, moguće je da se sedi o tzv. *founder effect*-u za varijantu prisutnu u našoj populaciji, ali se ne može isključiti ni to da se radi o prethodno neutvrđenom mutacionom predilekcionom mestu, s obzirom na to da se radi o lokalnoj duplikaciji.

*Null* varijante su tipično povezane sa težim kliničkim fenotipom, dok su kod FE većina detektovanih varijanti *missense* tipa (Abou-Khalil et al., 2001; Krenn et al., 2020; Ma et al., 2022; Perucca et al., 2017b). Ipak, veliki oprez je neophodan pri interpretaciji *missense* varijanti jer je teško predvideti njihov funkcionalni efekat, a samim tim i efekat na nastanak bolesti. Tako je u jednoj studiji koja je analizirala patogeni efekat *SCN1A* *missense* varijanti povezanih sa blagim fenotipom pokazano da mnoge varijante opisane u starijim studijama ne bi zadovoljile današnje kriterijume patogenosti, što sugeriše da je njihov udeo u FE možda precenjen (Lal et al., 2016). Sa druge strane, postoje brojni opisi pacijenata sa FE koji su nosioci *null* varijanti i u već pomenutoj analizi Meng i sar. ih je bilo 10% (Meng et al., 2015). Laur i sar. su opisali tri pacijenta sa FE od kojih su dva imala *null* varijante (Laur et al., 2021). Sva tri pacijenta su imala rani početak bolesti sa febrilnim napadima tokom prve godine života, uprkos čemu nijedan nije imao IO. Oba naša pacijenta su imali kasni početak bolesti (Tabela 41), što je zabeleženo i u ranijim serijama (Perucca et al., 2017b). Ipak, sestra pacijenta 5 je obolela u detinjstvu, što apostrofira prethodno opisanu fenotipsku varijabilnost koja je tipična za *SCN1A* porodice sa GEFS+ (Scheffer et al., 2009), kao i one sa TLE (Colosimo et al., 2007). Pacijent 5 je imao epileptički status sa 30 godina koji je bio precipitiran epizodom infektivne bolesti sa febrilnošću, iako nije projavljivao



febrilne napade u detinjstvu te se ne može podvesti pod GEFS+ fenotip. Oba pacijenta su obolela od teške FRE koja je kod pacijenta 6 ona sindromski odgovarala TLE, koja je ujedno i najčešće opisani lobarni sindrom povezan sa *SCN1A* varijantama sa ili bez HS (Abou-Khalil et al., 2001; Colosimo et al., 2007; Perucca et al., 2017b; Tiefes et al., 2019), ali sistematskih pregleda ili analiza većih grupa pacijenata sa FE koji bi potvrdili njenu učestalost nema. U literaturi su opisani i slučajevi drugih lobarnih sinroma kao što su lateralna TLE (Hildebrand et al., 2016), FLE (Krenn et al., 2020), poput pacijenta 5 u našem istraživanju, ali i retkih sindroma poput Panayiotopoulos-ovog sindroma (Livingston et al., 2009) i ADSHE (Sone et al., 2012). Pacijent 6 je pored epilepsije oboleo od esencijalnog tremora i depresije, za koju je takođe pokazana moguća povezanost sa *SCN1A* genom kod dece (Thapaliya et al., 2021), dok pojava tremora kod ovih pacijenata nije dokumentovana.

Bolest je tipično farmakorezistentna, što je bio slučaj i sa našim pacijentima koji su imali terapijski neuspeh sa 4 (pacijent 5) i 8 (pacijent 6) AEL (Tabela 41). Kako je hirurško lečenje u slučaju farmakorezistencije tipično najefikasniji vid lečenja FE, nameće se važno pitanje uticaja prisustva *SCN1A* varijanti na hirurški ishod. Skjei i sar. su prijavili seriju od šest pacijenata koji su operativno lečeni kod kojih je ishod bio loš i odgovarao ILAE 4 ili 5 (Skjei et al., 2015; Wieser et al., 2001). Slično je pokazao i Stevelink u čijem pregledu je sagledano 14 operisanih pacijenata sa *SCN1A* varijantama, u koje su bili uključeni i pacijenti iz prethodne serije, 14% pacijenata bilo BN posle operacije (Stevelink et al., 2018). Nešto optimističniji ishod je pokazan u skorijoj studiji Vezyroglou i sar. koji su na seriji od osam pacijenata pokazali dobar ishod operativnog lečenja kod pacijenata sa čistom FE u kojoj je većina pacijenata imala patohistološki dokazanu HS (Vezyroglou et al., 2020). Međutim, pacijenti koji su imali znake encefalopatije nisu imali klinički značajan benefit (ishod Engel klasa III ili IV), dok je jedna pacijentkinja posle operacije preminula od SUDEP, što je česta pojava u ovom sindromu gde se opisuje kod i do 53% pacijenata (Donnan et al., 2023). Interesantno je istaći da su među pacijentima sa lošim operativnim ishodom opisane suptilne kortikalne malformacije koje kod većina pacijenata nisu bile vidljive na preoperativnom MR mozga (Skjei et al., 2015): Međutim, *SCN1A* varijante mogu biti detektovane i kod pacijenata sa MR vidljivim kortikalnim malformacijama (Barba et al., 2014), čime je dalje proširen kliničko-radiološki spektar bolesti udružene sa *SCN1A* varijantama. Moguće je da su MCD udružene sa *SCN1A* varijantama prediktor lošeg hirurškog ishoda, međutim, u ovom trenutku za to nema dovoljno dokaza.

S obzirom na slab odgovor na većinu AEL, kao i na relativno skroman uspeh operativnog lečenja, istraživanje mogućnosti lečenja preciznom terapijom postaje posebno važno. Jedna od takvih mogućnosti je perampanel koji deluje kao AMPA antagonist i zbog toga može biti efikasan kao terapijska opcija u stanjima sa prevagom glutamatergičke transmisije, poput one kod *SCN1A* varijantama posredovane dezinhibicije. U jednoj multicentričnoj studiji koja je obuhvatila 17 pacijenata sa *SCN1A* varijantama, klinički benefit je pokazan kod 65%, dok je 5 pacijenata bilo BN tokom praćenja od prosečno dve godine (Nissenkorn et al., 2023). Ovi rezultati sugerišu obećavajuću perspektivu u lečenju *SCN1A* specifičnim farmacima primerenim mehanizmu bolesti, što apostrofiraju veliki značaj u što ranijem otkrivanju genskih varijanti kod FRE, što bi se moglo pokazati efikasnim i u slučaju naših pacijenata.

Veza *GRIN2A* varijanti sa epilepsijom je prvi put opisana 2010. godine u grupi pacijenata pacijenata sa IO među kojima su neki imali i epilepsiju (Endele et al., 2010). Potom je časopis *Nature Genetics* je 2013. u istom broju objavio tri rada koji povezuju varijante u *GRIN2A* genu sa bolestima epilepsija-afazija spektra, uključujući SeLECTS. Lemke i sar. su našli patogene varijante u ovom genu kod 7,5% od 359 pacijenata obolelih od entiteta u okviru ovog spektra koji su regrutovani u okviru EuroEPINOMICS mreže (Lemke et al., 2013). Lesca i sar. su opisali 10 familija i 7 pojedinaca sa LKS ili D/EE-SWAS koji su bili deo EPILAND konzorcijuma među kojima je približno 20% slučajeva imalo de novo ili nasleđene patogene varijante u *GRIN2A* genu (Lesca et al., 2013). Carvill i sar. su opisali varijante u *GRIN2A* genu kod 9% od 44 pacijenata sa bolestima iz epilepsija-afazija spektra, dok one nisu zabeležene kod preostalih 495 pacijenata sa drugim D/EE (Carvill et al., 2013). Međutim, tek po objavljivanju rezultata Epi4K/EPGP je potvrđena njegova uloga u FE izvan ovog relativno uskog spektra

oboljenja. U ovom istraživanju je *GRIN2A* bio peti plasirani gen po zastupljenosti ultra-retkih varijanti među obolelima od familijarne NAFE u kojoj su one registrovane kod 1,3% pacijenata (Epi4K consortium and EPGP, 2017).

*GRIN2A* gen je lociran na dugom kraku 16. hromozoma (Tabela 45) i pripada evolutivno visokokonzerviranoj familiji *GRIN* gena koje karakteriše nizak stepen tolerancije na varijaciju koji kodiraju subjedinice NMDA receptora (Petrovski et al., 2013). NMDA receptori su heterotetrameri sačinjeni od različitih kombinacija subjedinica od kojih je su mozgu daleko najzastupljeniji heterotetrameri sačinjeni od dva GluN1/GluN2A heterodimera. Ovakav NMDA receptor za aktivaciju zahteva vezivanje dva molekula glicina za GluN1 subjedinice, dva molekula glutamata za GluN2 subjedinice, kao i dislokaciju magnezijumovog jona lociranog u unutrašnjosti pore što se dešava kao posledica subpragove membranske depolarizacije za koju je neophodna aktivacija obližnjih AMPA receptora (detaljno o ovom mehanizmu u Poglavlju 1.4.2.6). Varijante u čitavoj familiji *GRIN* gena, najčešće *GRIN2A* (46%), *GRIN2B* (38%) i *GRIN1* (14%), su pored epilepsije, povezane sa sličnim spektrom kognitivnih neuroloških i psihijatrijskih oboljenja koji odražava važnu ulogu NMDA receptora u višim kortikalnim funkcijama (XiangWei et al., 2018).

Tabela 45 Molekularno-genetičke karakteristike *GRIN2A* gena

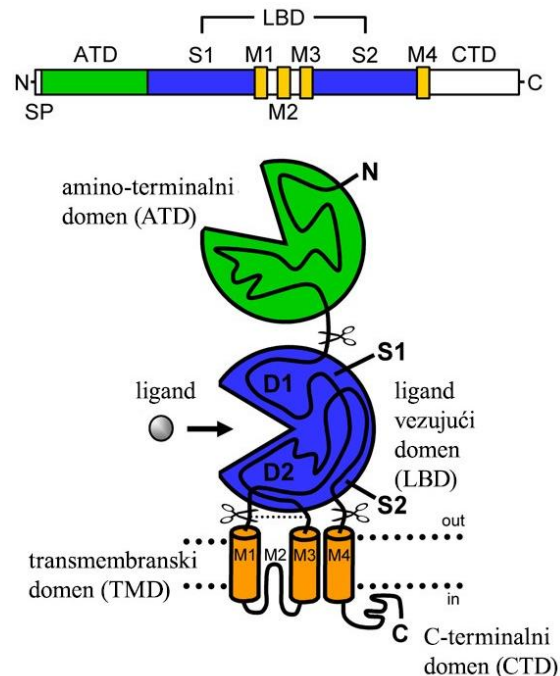
<b>GRIN2A</b>		
OMIM	*138253	
Citogenetska lokacija	16p13.2	
Dužina gena	430 kb	
Oznaka proteina	GluN2A	
Veličina proteina	1464 AK, 1652 kDa	
Proteinski domeni	Segmenti	Funkcija
<b>ATD</b>		
<b>LBD</b>	S1	Vezivanje za LBD GluN1 subjedinice
	S2	
<b>TMD</b>	M1	Pora
	M2	Povratna petlja
	M3	Pora i aktivaciona vratanica
	M4	Pora
<b>CTD</b>		

OMIM – eng. *Online Mendelian Inheritance in Man*; ATD – amino-terminalni domen; LBD – ligand vezujući domen, eng. *ligand binding domain*; TMD – transmembranski domen; CTD – C-terminalni domen; kb – kilobaza; AK – aminokiselina; kDa – kilodalton

GluN2A subjedinica ima dva ekstracelularna domena, amino-terminalni domen (ATD) i ligand vezujući domen (eng. *ligand binding domain*, LBD) i jedan transmembranski domen sa 4 heliksa (M1, M3, M4) i jednom povratnom petljom (M2) koji formiraju poru kanala (Slika 83). LBD se sastoji iz dva segmenta (S1 i S2) između kojih se vezuje molekul glutamata. S2 je linkerima povezan sa M1, M3 i M4 transmembranskim segmentima i učestvuje u konformacionim promenama neophodnim za otvaranje pore kanala, dok se pomoću S1 segmenta GluN2A subjedinica vezuje za GluN1 subjedinicu heterodimera (Wang and Furukawa, 2019). Transmembranski domen, linker koji vezuju njegove segmente sa LBD, kao i LBD domen su evolutivno visokokonzervirani i jako su osetljivi na *missense* varijante (Myers et al., 2019; Swanger et al., 2016).

Distribucija patogenih varijanti u *GRIN2A* genu korespondira njihovim funkcionalnim konsekvencama i dobro korelira sa težinom kliničke slike. Funkcionalne analize su pokazale da 33% varijanti u ATD, 87% varijanti u LBD i čak 96% varijanti u TMD dovodi do funkcionalnih izmena u GluN subjedinicama, dok to nije pokazano ni kod jedne varijante u CTD, iako se postojanje suptilnih alteracija nedostupnih funkcionalnim testovima ne mogu isključiti (XiangWei et al., 2018). U do sada najvećoj seriji od 248 obolelih nosilaca varijanti u *GRIN2A* genu, od koji su 121 bili pojedinačni

slučajevi, a preostalih 127 članovi 36 porodica, 145 (58,5%) pacijenata imalo *null* varijante, među kojima su 35 (24,1%) nosili *nonsense*, 23 (15,9%) pacijenta *frameshift*, 42 (29,0%) varijante kanoničnog mesta splajsovanja, tri (2,1%) varijante sa gubitkom start kodona i 42 (29,0%) sa manjim strukturnim varijantama koja zahvataju *GRIN2A* i/ili okolne gene.(Strehlow et al., 2019). Preostala 103 (41,5%) pacijenta su imala missense varijante i oni su podeljeni u dve grupe – 69 (67,0%) pacijenata sa *missense* varijantama u ATD i LBD domenima i 34 (33,0%) pacijenata sa missense varijantama u TMD domenu i linkerima između M1, M3 i M4 i LBD.



Slika 83 Shematski prikaz *GluN2A* subjedinice NMDA receptora, adaptirano iz Traynelis et al., 2010

Varijanta c.1586T>C, p.Val529Ala je nova prethodno neregistrovana varijanta koje je detektovana u našem istraživanju i koja je lokalizovana u S1 segmentu LBD domena (Tabela 37). Ona je anotirana kao štetna od strane MetaRNN, ali je imala nizak REVEL i CADD skor zbog čega je klasifikovana kao VUS, uprkos superiornosti MetaRNN u razlikovanju retkih benignih od retkih patogenih varijanti o kojoj je ranije bilo reči (Poglavlje **Error! Reference source not found.**). Varijante u ovom delu gena imaju LOF efekat na NMDA receptor i ujedno su i najčešća lokacija *missense* varijanti u ovom genu (Myers et al., 2019). Mogući mehanizam nastanka LOF je smanjen odgovor na vezivanje agonista, kao i smanjena ekspresija kanala na površini ćelije koja je pokazana kod nekih varijanti u ovom domenu (Addis et al., 2017). Pacijenti koji su nosioci ovih varijanti, nalik nosiocima *null* varijanti, su tipično normalne intelektualne funkcije ili samo blago IO (Strehlow et al., 2019), što je podržano i rezultatima Epi4K studije u kojoj su kod 3/7 nosilaca detektovane *null* varijante, sugerišući njihovu asocijaciju sa blažim fenotipom (Epi4K consortium and EPGP, 2017). Slično je bilo i u našoj studiji u kojoj je c.1586T>C, p.Val529Ala varijanta zabeležena kod pacijentkinje 8 (Tabela 38) koja je obolela od desne TLE+ udružene sa HS i koja je normalne intelektualne funkcije. Kako su *missense* varijante u TMD i linker regionima dovodile do GOF i bile povezane sa težim stepenom IO, one su u seriji Strehlow i sar. očekivano sve nastale *de novo* dok je 40% *missense* varijanti u ATD i LBD domenima bilo nasleđeno. Uz to, svega 3/248 nosioca je bilo zdravo, a preko 80% imalo epilepsiju, što znači da penetrantnost *GRIN2A* varijanti nije značajno redukovana. Ovo je u skladu sa familijarnom pojavom bolesti koja je registrovana kod pacijentkinje 8 u našoj studiji, mada uzorci krvi članova porodice nisu bili dostupni za analizu kako bi njena naslednost bila potvrđena.

Govorni poremećaji su registrovani kod preko 90% nosilaca varijanti (Strehlow et al., 2019). Iako se kod nosilaca varijanti mogu pronaći govorni poremećaji varijabilne težine, od izolovane razvojne disfazije do regresije govora i mutizma, Turner i sar. su pokazali da se kod mnogih pacijenata može očekivati specifičan obrazac govorne disfunkcije (Turner et al., 2015a). Oni su našli da ovi pacijenti imaju govornu dispraksiju, poremećaja motornog planiranja i programiranja i dizartriju u okviru kojih dominira neprecizna artikulacija suglasnika i samoglasnika, hipernazalnost i poremećaj prozodije. Ovo sugeriše da GluN2A igra važnu ulogu u razvoju govora, što je očekivano s obzirom na visoku ekspresiju ove receptorske subjedinice u regionima uključenim u govorne funkcije poput anteriornog cinguluma, talamusa, putamena, cerebeluma, anteriornog i dorzolateralnog prefrontalnog korteksa i kaudatusa (Liégeois and Morgan, 2012). Ipak, većina dosadašnjih studija je bazirana na kohortama pacijenata sa karakterističnim kliničkim fenotipom, što nameće pitanje učestalosti ovih poremećaja u opštoj populaciji nosilaca *GRIN2A* varijanti sa epilepsijom. U jednom pregledu prethodno objavljenih varijanti, *missense* varijante locirane u LBD domenu su najčešće bile povezane sa epilepsijom, a ređe sa poremećajem govora i IO (Myers et al., 2019), što je možda objašnjenje za to što kod pacijentkinje 8 nije registrovan poremećaj govora čak ni u okviru opsežnog neuropsihološkog testiranja.

U do sada publikovanim studijama je vrlo malo informacija o lobarnim dijagnozama kojima odgovaraju nosioci *GRIN2A* varijanti, pogotovu onih sa čistom FE bez IO. Lal i sar. su istraživali učestalost *GRIN2A* varijanti kod čestih epileptičkih sindroma i u seriji od 414 pacijenata sa TLE nisu našli nijednog nosioca *GRIN2A* varijanti (Lal et al., 2015), dok je u studiji Strehlow i sar. samo jedan pacijent imao HS, a drugi povišen intenzitet signala u hipokampusu bez jasnih znakova HS (Strehlow et al., 2019). Ovo sugeriše da klasična TLE udružena sa HS nije uobičajen fenotip kod nosilaca *GRIN2A* varijanti. U slučaju naše pacijentkinje je registrovan veći broj dijagnostičkih nalaza koji govori u prilog primarnoj epileptogenoj zoni izvan temporalnog režnja, uključujući hipometabolizam glukoze u kontralateralnoj insuli (Slika 67), ali s obzirom na postojanje HS koja, iako možda ne primarno, u ovom trenutku izvesno doprinosi njenoj bolesti, pacijentkinji je postavljena dijagnoza TLE+. Uzevši sve navedeno u obzir, zaključeno je da uprkos postojanju višestrukih argumenata koji govore u prilog patogenosti varijante c.1586T>C, p.Val529Ala, u ovom trenutku nisu zadovoljeni ACMG-AMP kriterijumi za verovatno patogenu varijantu te je ona klasifikovana kao VUS: S obzirom na relativnu pristupačnost *GRIN2A* varijanti funkcionalnoj analizi, ova varijanta je dobar kandidat za funkcionalne studije, koje bi mogle dovesti do njene reklasifikacije u slučaju dokaza LOF efekta.

U ispitivanoj grupi pacijenata je registrovana još jedna varijanta c.3578T>G, p.Leu1193Trp (Tabela 37), koja u skladu sa prethodnim klasifikacijama i *in silico* predikcijama klasifikovana kao verovatno benigna. Ona je lokalizovana u CTD domenu GluN2A u kome su u jednom pregledu *GRIN2A* varijanti povezanih sa epilepsijom patogene ili verovatno patogene varijante zabeležene kod svega 9% pacijenata sa epilepsijom (Myers et al., 2019). Šta više, u seriji Strehlow i sar. nijedna patogena ili verovatno patogena varijanta nije registrovana u ovom domenu (Strehlow et al., 2019), a funkcionalne studije nisu pokazale značajan funkcionalan efekat varijanti u ovom domenu (XiangWei et al., 2018). S obzirom na to da je GnomAD MAF varijante c.3578T>G, p.Leu1193Trp bio 0,0001, kao i na to da je prethodno prijavljena kao verovatno benigna od strane više izvora u ClinVar, ona je zadovoljila kriterijume za verovatno benignu varijantu. Stoga je zaključeno da kod pacijenta 7 ona verovatno nije izazivač bolesti, iako mogućnost njenog učešća u patogenezi epilepsije nije u potpunosti isključena.

Epilepsija kod pacijenata sa *GRIN2A* varijantama je često farmakorezistentna (von Stülpnagel et al., 2017) zbog čega je *GRIN2A* ekstenzivno ispitivan kao potencijalna meta u preciznoj medicini. Dobro razumevanje funkcionalnih posledica varijanti je neophodno za predviđanje farmakološkog efekta terapije. Tako je kod pacijenata sa *GRIN2A* GOF varijantama predlagana upotreba NMDA anatagonista poput memantina, amantadina, ketamina i dektrometorfana (Samanta, 2023). Memantin je kod ovih pacijenata pokazao povoljan klinički efekat (Amador et al., 2020; Bouhadoun et al., 2021; Pierson et al., 2014). Slično tome, suplementacija L-serinom se pokazala efikasnom u lečenju pacijenata sa *GRIN2A* i *GRIN2B* LOF varijantama (Krey et al., 2022). Međutim, do sada publikovani rezultati su ograničeni na

prikaze pojedinačnih pacijenata i kliničke studije za evaluaciju efikasnosti ovih strategija su neophodne u perspektivi. Naše razumevanje funkcionalnih posledica je do sada uglavnom bilo ograničeno na celularni nivo, dok oskudne informacije iz animalnih modela sugerišu postojanja širih posledica u okviru neuralnih mreža koja mogu nastati kao posledica kompleksnijih mehanizama poput ekscitotoksičnosti (Gale et al., 2021) ili poremećaja GABA-ergičke mreže (Amador et al., 2020; Kinney et al., 2006). S obzirom na hipotetisanu prevagu u ekscitatornoj transmisiji, perampanel je razmatran kao precizna terapijska opcija u lečenju pacijenata sa *GRIN2A* varijantama, ali je nasuprot uspehu kod pacijenata sa *SCN1A* varijantama, kod ovih pacijenata povoljan efekat bio redak (Nissenkorn et al., 2023). S obzirom na pretpostavljeni LOF mehanizam c.1586T>C, p.Val529Ala varijante, lečenje pacijentkinje 8 pomoću L-serina bi moglo biti dobra terapija opcija, s obzirom na utvrđenu farmakorezistenciju i malu verovatnoću neželjenih efekata ovog preparata.

Juberg u sar. su 1971. godine opisali epilepsiju praćenu IO kod 15 ženskih članova jedne porodice, dok su muški članovi bili prividno zdravi (Juberg and Hellman, 1971). Ryan i sar. su 1997. sugerisali da se verovatno radi o oboljenju sa neobičnim obrascem X-vezanog nasleđivanja (Ryan et al., 1997). Konačno su 2008. godine Dibbens i sar. povezali ovo oboljenje sa *PCDH19* genom, što je poput prethodnih slučajeva, takođe objavljeno u časopisu *Nature Genetics* (Dibbens et al., 2008). Iako inicijalno povezan sa teškom D/EE nalik Dravet sindromu kod devojčica, nazvanom *epilepsija i mentalna retardacija ograničena na ženske osobe* (eng. *epilepsy and mental retardation limited to females*, EFMR) (Scheffer et al., 2008) poslednjih godina se sve češće povezuje sa FE značajno lakšeg fenotipa čak i kod muških pacijenata (Epi4K consortium and EPGP, 2017; Krenn et al., 2020; Perucca et al., 2017b).

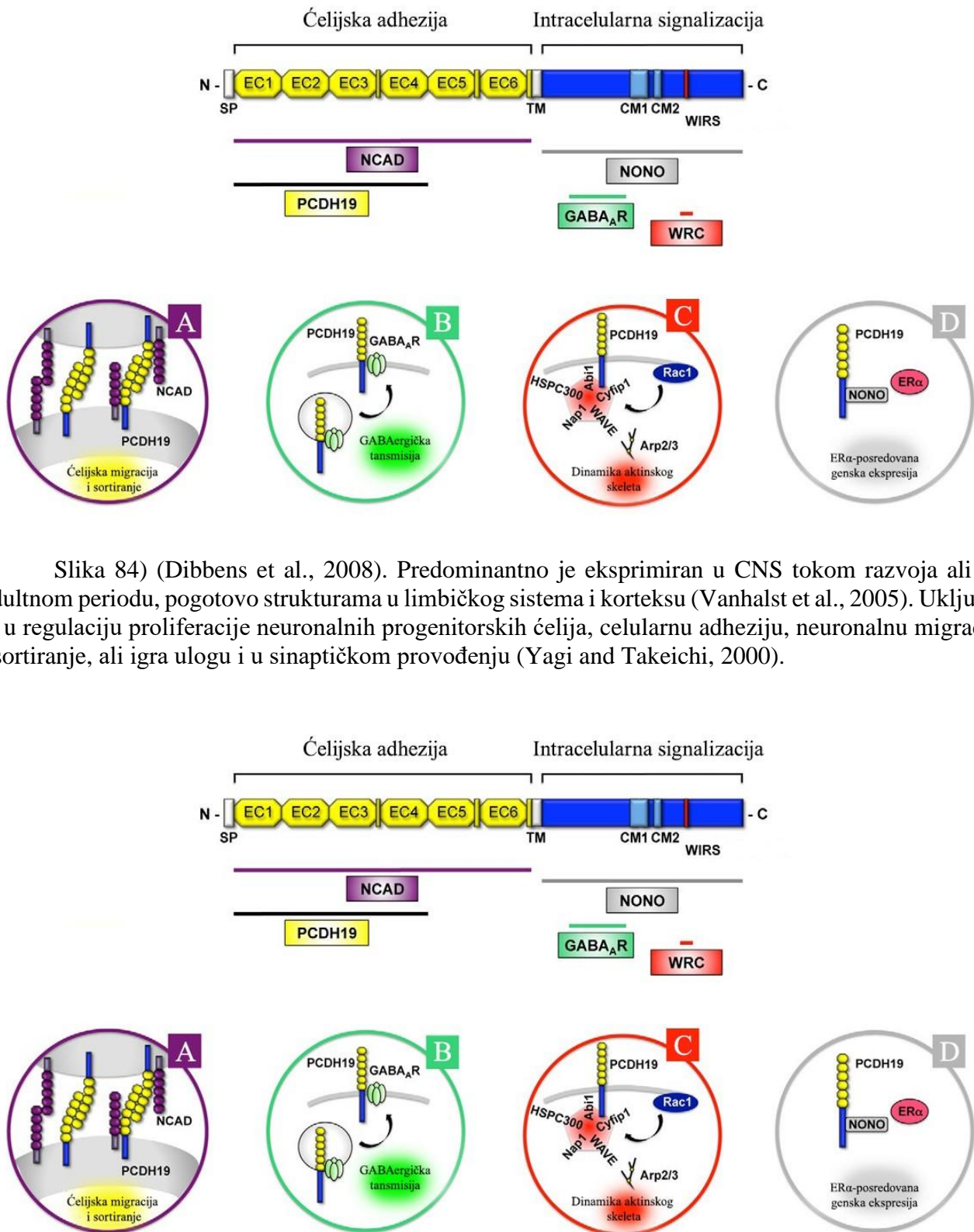
Tabela 46 Molekularno-genetičke karakteristike *PCDH19* gena

<b><i>PCDH19</i></b>			
OMIM	*300460		
Citogenetska lokacija	Xq22.1		
Broj egzona	6		
Dužina gena	3,4 kb		
Dužina transkripta	9765 nt		
Oznaka proteina	PCDH19		
Veličina proteina	1448 AK, 126 kDa		
Lokalizacija	Proteinski domeni	Motivi	Funkcija
Ekstracelularni	EC1		Međucelijska adhezija
	EC2		
	EC3		
	EC4		
	EC5		
	EC6		
Transmembranski	TM		
Citoplazmatski	CTD	CM1	
		CM2	

OMIM – eng. *Online Mendelian Inheritance in Man*; kb – kilobaza; nt – nukleotida; AK – aminokiselina; kDa – kilodalton; EC – eng. *extracellular cadherin*; TM – transmembranski domen; CTD – C terminalni domen; CM – eng. *conserved motif*

*PCDH19* se nalazi na kratkom kraku X hromozoma i sastoji se od šest egzona od kojih je prvi neobično dugačak (Tabela 46). Kodira protein protokadherin 19 (PCDH19) koji pripada protokadherin 82 podklasi kadherinske superfamilije. PCDH19 je kalcijum zavisni ćelijski adhezioni molekul koji sadrži šest ekstracelularnih kadherinskih domena (EC1-EC6), transmembranskog domena (TM) i

citoplazmatrskog regiona koji sadrži dva visokokonzervirana domena, CM1 i CM2 (



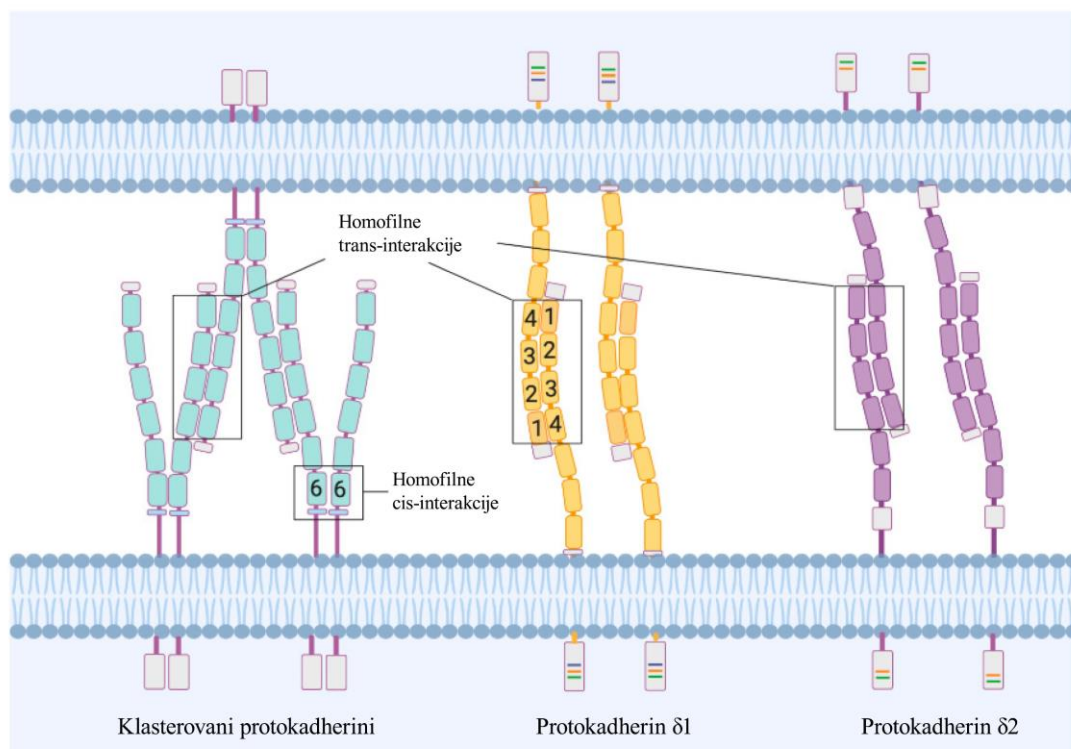
Slika 84) (Dibbens et al., 2008). Predominantno je eksprimiran u CNS tokom razvoja ali i u adultnom periodu, pogotovo strukturama u limbičkog sistema i korteksu (Vanhalst et al., 2005). Uključen je u regulaciju proliferacije neuronalnih progenitorskih ćelija, celularnu adheziju, neuronalnu migraciju i sortiranje, ali igra ulogu i u sinaptičkom provođenju (Yagi and Takeichi, 2000).

Slika 84 Struktura i funkcije protokadherina 19 koji sadrži ekstracelularni domen sačinjen od šest ekstracelularnih kadherinskih ponovaka (EC1-EC6), transmembranskog domena (TM), intracelularnog C-terminalnog domena sa dva konzervirana regiona (CM1 i CM2) i WRC-interagujućom receptorskom sekvencijom (WIRS). EC domeni učestvuju u ćelijskoj adheziji pomoću homofilnih interakcija sa N-kadherinima (NCAD), dok citoplazmatički domen učestvuje u intracelularnoj signalizaciji i trefikingu pomoću interakcije sa GABA<sub>A</sub> receptorom (GABA<sub>A</sub>R), NONO (eng. non-POU

domain containing octamer) proteinom i WRC (eng. wave regulatory complex). B *PCDH19* interakcija sa drugim *PCDH19* i *NCAD* reguliše ćelijsku migraciju i formiranje neuronskih mreža. C *PCDH19* se vezuje za  $\alpha$  subjedinicu *GABA<sub>A</sub>R* čime dovodi do povećane membranske ekspresije. D *PCDH19* povećava WRC aktivaciju posredstvom *Rac1* što reguliše dinamiku aktinskog citoskeleta. E *PCDH19* reguliše gensku ekspresiju enzima neophodnog za sintezu estrogena pomoću interakcije *NONO* proteina sa  $\alpha$  subjedinicom estrogenog receptora (*ER $\alpha$* ) Adaptirano iz Gerosa et al., 2019

Neobičan obrazac nasleđivanja oboljenja izazvanih varijantama u *PCDH19* genu je objašnjen njegovom specifičnom ulogom. Naime, bolest se tipično javlja kod ženskih heterozigota, dok su muški hemizigoti prividno asimptomatski prenosioci varijanti (Dibbens et al., 2008). Međutim, gotovo identičan fenotip je zabeležen i kod muškaraca sa somatskim mozaicizmom (Christel Depienne et al., 2009), kao i kod muškaraca sa Klinefelterovim sindromom (Romasko et al., 2018). Kako patogene varijante u *PCH19* genu dovode do LOF i za posledicu imaju nefunkcionalan ili potpuno odsutan proteinski produkt (Christel Depienne et al., 2009), nameće se pitanje kako prisustvo jednog aberantnog proteina dovodi do nastanka kliničkog fenotipa dok je njegovo potpuno odsustvo asimptomatsko. Jedno potencijalno objašnjenje je tzv. *model celularne interferencije* koje su predložili Depienne i sar (Christel Depienne et al., 2009).

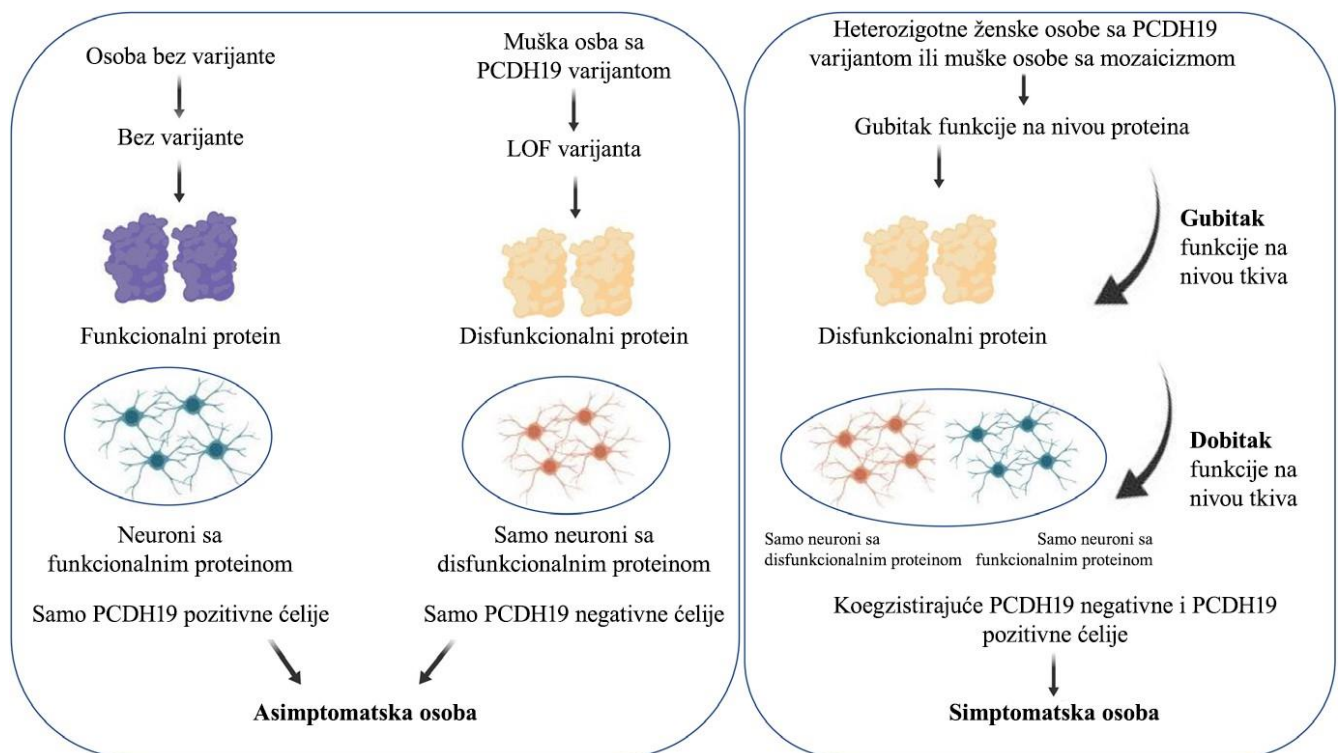
U ženskim ćelijama se nasumično inaktivira jedan X hromozom, što u slučaju postojanje patogene varijante u *PCDH19* genu kao posledicu daje heterogenu populaciju neurona među kojima neki imaju, a neki nemaju funkcionalan *PCDH19*, slično kao u slučaju somatskog mozaicizma kod muškaraca. Nedostatak *PCDH19* proteina se verovatno kompenzuje prisustvom drugih protokadherina kodiranih nekim od preko 70 drugih gena koji se nalaze širom čitavog egzoma, što za rezultat daje ćelije sa različitim protokadherinskom garniturom na svojoj površini (Christel Depienne et al., 2009). Nasuprot tome, kod muških hemizigota postoji samo jedna populacija neurona sa nefunkcionalnim proteinom koja je verovatno kompenzovana drugim protokadherinima.



Slika 85 Shematski prikaz mehanizma ćelijske adhezije pomoću protokadherina. Pcdh – protokadherini. Adaptirano iz Mancini et al., 2020

Protokadherini na površini različitih ćelija se međusobno kače poput čičak trake i tako dovode do međućelijske adhezije (Cooper et al., 2016), pritom preferencijalno interegujući sa ćelijama koje

ekspimiraju istu protokadherinsku garnituru (Slika 85) (Christel Depienne et al., 2009). Zbog toga u heterogenim neuronskim populacijama dolazi do poremećaja međućeliske interakcije što za posledicu verovatno ima izmenjenu aktivnost neuralne mreže usled abnormalnog celularnog aranžmana, dok u ćelijskim populacijama sa potpunim odsustvom PCDH19 ove izmene ne postoje (Pederick et al., 2018). Tako varijanta koja na celularnom nivou dovodi do LOF na nivou neuralne mreže odnosno tkiva za posledicu ima GOF (Slika 86) (Christel Depienne et al., 2009; Pederick et al., 2018). Moguće je da u ovom procesu učestvuju i skorije otkriveni mehanizmi, poput asinhronije u neurodiferencijaciji između ćelija koja imaju normalan i izmenjen PCDH19 (Homan et al., 2018). Uzevši sve navedeno u obzir, i dalje aktuelna hipoteza je bazirana na neskladu između neuronskih populacija sa izmenjenim i neizmenjenim PCDH19 i pretpostavlja da prisustvo samo normalnog kao i samo izmenjenog alela ne dovodi do bolesti. Ipak, do danas nije opisan nijedan slučaj homozigotnog LOF kod asimptomatskih žena kojim bi se ova hipoteza potvrdila (Gecz and Thomas, 2020), a hiperekscitabilnost je pokazana u animalnim modelima i u mozaičnoj i u nemozaičnoj formi (Robens et al., 2022).



Slika 86 Shematska reprezentacija modela celularne interferencije sa LOF na nivou ćelije, a GOF na nivou tkiva, adaptirano iz Niazi et al., 2019

Osim modela ćelijske interferencije, predloženi su i drugi mehanizmi koji mogu, barem delom, učestvovati u patogenezi epilepsije povezane sa *PCDH19* genom. Endotelne ćelije su mesto visoke ekspresije ovog gena, pogotovu u CNS. Higuraši i sar. su pokazali da deficit *PCDH19* može dovesti do imunski posredovanog poremećaja hematoencefalne barijere praćen pojavom anti-NMDA antitela u likvoru, što je bilo uspešno suprimirano primenom kortikosteroida. (Higurashi et al., 2015). Autori su hipotetisali da se remisija napada u adolescenciji kod karakterističnog fenotipa može objasniti maturacijom hematoencefalne barijere kod ovih pacijenata. Osim toga, *PCDH19* disfunkcija dovodi i do redukcije sekrecije neurosteroida poput alopregnanolona (Tan et al., 2015), progesteron sulfata, ali i kortizola (Trivisano et al., 2017). Hipotetisano je i da se uzrasna zavisnost pojave napada može objasniti relativnim deficitom neurosteroida u periodu između tzv. *malog puberteta* u prvoj godini života i pravog puberteta u adolescenciji (Samanta, 2020).

Poslednjih godina je opisan i uticaj *PCDH19* na GABA-ergičku transmisiju kojom on verovatno učestvuje u trofičkim kao i inhibitornim funkcijama GABA-ergičke transmisije o kojoj je ranije bilo reči



(Poglavlje **Error! Reference source not found.**). Čelije u kojima je inhibirana ekspresija *PCDH19* imaju smanjenu ekspresiju GABA receptora na ćelijskoj membrani (Bassani et al., 2018), kao i izmene u njihovoj provodljivosti (Serratto et al., 2020). Bassani i sar. su pretpostavili da *PCDH19* ostvaruje svoj uticaj na GABA receptor direktnim vezivanjem za  $\alpha$  subjedinicu GABA<sub>A</sub> receptora pomoću segmenta CTD domena *PCDH19* proteina između 763. i 879. aminokiseline (Bassani et al., 2018). Druga mogućnost je da je opservirano smanjenje GABA<sub>A</sub> funkcije posledica relativnog deficita alopregnanolona koji je snažan pozitivni alosterlni modulator ovog receptora (Strömberg et al., 2006). U ovom trenutku nije sasvim jasno kako se GABA-ergička disfunkcija uklapa u nasledni obrazac bolesti vezanih za *PCDH19* varijante, ali je moguće da u tome ulogu igraju polne razlike u GABA-ergičkoj transmisiji (Mazzoleni and Bassani, 2021). Međutim, moguće je da se izmenama u regulaciji GABA-ergičke transmisije mogu objasniti fenotipske karakteristike opservirane kod muških hemizigota kod kojih je opisan PAS kao i IO (Kolc et al., 2020a; Piton et al., 2011; van Harssel et al., 2013), s obzirom na to da je GABA-ergička disfunkcija povezana sa ovim spektrom oboljenja (Mazzoleni and Bassani, 2021).

U našem istraživanju je registrovana jedna frameshift *PCDH19* varijanta sa prevremenim terminacionim kodonom, c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2 koja je locirana u egzonu tri i korespondira segmentu citoplazmatske petlje između TM i CM1 koji je zadužen za vezivanje za  $\alpha$  subjedinicu GABA<sub>A</sub> receptora. S obzirom na to da se radi o prethodno neregistrovanoj *null* varijanti, ona je klasifikovana kao verovatno patogena (Tabela 37). Varijanta je nađena kod dva pacijenta koji su obojica muškog pola. Frakcija varijantnog alela je bila 0,2 kod pacijenta 9 i 0,13 kod pacijenta 10. S obzirom na to da se radi o genu lociranom na X hromozomu, ovakav nalaz je visokosugestivan za postojanje somatskog mozaicizma nastalog rano tokom embrionalnog razvoja. Međutim, iako je u našoj studiji rađeno duboko sekvenciranje sa velikim stepenom pouzdanosti dobijenih rezultata, definitivna potvrda mozaicizma bi zahtevala dopunske analize koje u trenutku izrade ove disertacije nisu bile dostupne. Pacijent 9 ima oca koji je imao jedan spontani neprovocirani epileptički napad, što nije spojivo sa X vezanim obrascem nasleđivanja i sugerise moguće druge genetske faktore, ali ne isključuje mogućnost de novo somatske *PCDH19* varijante koja doprinosi nastanku bolesti. Naspram toga, pacijent 10 ima obolelu majku, te se u njegovom slučaju mogućnost nasledne germinativne varijante ne može u potpunosti isključiti.

Varijante u *PCDH19* genu se češće registruju kod žena, dok je zastupljenost muškaraca u kohortama nosioca ovih varijanti je nađena u rasponu od 4,5% do 10% (Kolc et al., 2019; Niazi et al., 2019; Shibata et al., 2021). Ipak, sa širim prepoznavanjem ovog gena kao učesnika u patogenezi bolesti kod muških pacijenata raste njihov udeo. Tako je u studiji Depienne i sar. iz 2012. godine opisana svega jedna varijanta kod muškog pacijenta, od 70 koliko je bilo uključeno u analizu (Depienne and Leguern, 2012), dok je u studiji Niazi i sar. koja je obrađivala 108 varijanti objavljenih nakon 2012. ovaj broj bio daleko i iznosio je 11/108 (Niazi et al., 2019). Stoga, sa sve širom primenom NGS verovatno možemo očekivati sve veći broj muških pacijenta kod kojih su prepoznate ove varijante, uključujući i pacijente u našem istraživanju.

Preko polovine varijanti opisanih u mata-analizi Kolc i sar. je nastalo *de novo*, što se pretpostavlja i u slučaju naših pacijenata. Relativno veliki procenat varijanti je bio nasleđen od majke (18,7%), uprkos tome što su varijante u ovom genu spojene sa teškim fenotipom kod ženskih osoba (Kolc et al., 2019). Ovo je možda delimično uslovljeno i redukovanom penetrantnošću koja je u ovoj studiji procenjena na oko 80% kod ženskih osoba. Majka pacijenta 10 u našem istraživanju je takođe obolela od epilepsije te se, bez analize majčinog gena ne može u potpunosti isključiti mogućnost da je ova varijanta nasleđena.

Varijanta c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2 je registrovana kod dva pacijenta koji nisu u srodstvu. Rekurentne varijante u *PCDH19* genu se relativno retko sreću u do sada objavljenim podacima. U analizi Kolc i sar. opisane su svega dve rekurentne varijante kod ukupno 55 pacijenata od kojih 31 pacijent nije bio u srodstvu (Kolc et al., 2019). Jedna od njih, c.1091\_1092dup, p.Tyr366Leufs\*10, je

mala lokalna duplikacija sa *frameshift* efektom i prevremenim terminacionim kodonom, vrlo slična onoj opisanoj u našoj studiji. Šta više, ona je registrovana *de novo* kod 7/11 pacijenata koji nisu bili u srodstvu. Slično tome, c.2341dup, p.I781Nfs\*3 je takođe opisana *de novo* kod muške osobe sa PAS (Kolc et al., 2020a) kao i kod jedne ženske osobe sa epilepsijom i poremećajem pažnje (Cappelletti et al., 2015; Marini et al., 2012). Uprkos tome što su male duplikacije relativno retka forma varijanti, one su kao rekurentne opisane u više navrata u ovom genu, uključujući i u našem istraživanju. Šta više, na istoj lokaciji kao c.1091\_1092dup, p.Tyr366Leufs\*10 je opisana i mala delecija c.1091delC, p.Pro364Argfs\*4, koja je takođe bila rekurentna (Kolc et al., 2020b; Liu et al., 2017; van Harssel et al., 2013). Shibata i sar. su opisali grupu od sedam citozinskih ponovaka ushodno od ove vruće tačke (Shibata et al., 2021). Kako su mononukleotidni ponovci opisani kao predilekciona mesta za nastanak varijanti kod maligniteta gastrointestinalnog trakta (Alves et al., 2016; Jo et al., 2016), moguće je da njihovo prisustvo u ovom genu dovodi do ovih vrućih tački. Međutim, u slučaju varijante registrovane kod naših pacijenata nisu nađeni vulnerabilni segmenti DNK u njenoj neposrednoj blizini kojima bi se mogla objasniti mutagena predispozicija, tako da je moguće da su ovaj proces uključeni i drugi mehanizmi, poput spore reparacije mutacija (Tornaletti and Pfeifer, 1994).

Većina varijanti u *PCDH19* genu su lokalizovane u neobično velikom prvom egzonu koji kodira ekstracelularne kadherinske, transmembranski kao i mali deo intracelularnog domena. U analizi Niazi i patogene *null* varijante su bile locirane u čitavom genu izuzev poslednjem egzonu, iako je daleko najveći broj njih registrovan u prvom egzonu, dok su sve patogene *missense* varijante bile ograničene samo na prvi egzon (Niazi et al., 2019). U meta-analizi Kolc i sar. preko polovine svih registrovanih *PCDH19* varijanti su bile lokalizovane u EC3 i EC4 domenima, verovatno usled funkcionalnog značaja ovih domena u ćelijskoj adheziji (Kolc et al., 2019). Shibata i sar. ispitivali korelaciju lokacije i tipa varijanti sa kliničkim fenotipom u do sada najvećoj objavljenj analizi koja je uključila 455 varijanti (Shibata et al., 2021). Oni su pokazali da se patogene *missense* ili *null* varijante izuzetno retko mogu naći u citoplazmatskom CTD domenu, odnosno poslednjem egzonu, dok se u GnomAD bazi one često nalaze u ovim delovima gena, što sugerise da verovatno nemaju značajan uticaj na funkcionalnost proteinskog produkta. Šta više, patogene *null* varijante nisu imale ravnomernu distribuciju EC1-EC6 domena poput *missense* varijanti već su se izdvajali u dve grupe – one koji su grupisani od EC1 do EC4 i oni grupisane od EC5 do citoplazmatskog CTD domena, izuzev poslednjeg egzona i 50 nukleotida ushodno od njega. Autori su potom pokazali da pacijenti sa *null* varijantama EC1-EC4 i *missense* varijantama imaju sličan fenotip, dok oni sa *null* varijantama distalno od EC5 domena imaju blažu kliničku sliku sa kasnijim početkom bolesti, blažim stepenom ili potpunim odsustvom IO (Shibata et al., 2021). Ovo je u skladu sa prethodno opisanom korelacijom ranijeg početka bolesti i težine IO opisanoj (Kolc et al., 2019; Trivisano et al., 2018), kao i rezultatima našeg istraživanja. Naime, c.2417\_2433dup, p.Asn812ProfsTer2 varijanta registrovana kod naših pacijenata je locirana u citoplazmatskom CTD domenu, između TM domena i CM1 motiva, a njeni nosiocu su imali kasniji početak bolesti i nisu imali IO (Tabela 38).

Ovakva razlika u efektu *null* varijante različite lokacije nije pokazana u drugim genima, kao što je npr. *SCN1A*. Šta više, s obzirom na to da je kod *PCDH19 null* varijanti sa prevremenim terminacionim kodonom pokazana degradacija RNK posredstvom NMD (Dibbens et al., 2008), kao i na to da do sada nisu opisani *PCDH19* skraćeni proteini, očekuje se da *null* varijante u ovom genu dovode do potpunog odsustva funkcionalnog proteina, nezavisno od lokacije varijante. Samim tim se nameće pitanje kako varijante sa istim molekularnim ishodom mogu dovesti do različitog kliničkog fenotipa. Međutim, s obzirom na to da su predmet funkcionalnih studija do sada bile isključivo varijante locirane u prvom egzonu (Borghetti et al., 2022), moguće je da *null* varijante distalno od EC5 ne dovode do NMD i da bi kao ishod mogle imati delimično funkcionalni protein, što je sugerisano i od strane drugih autora (Leonardi et al., 2014). U tom smislu su ove varijante posebno interesantna tema za funkcionalne studije u perspektivi. Interesantno je istaći da iako *missense* varijante ove lokalizacije nisu pokazale značajan funkcionalni efekat i nisu povezane sa bolešću, je moguće da varijante koje dovode do skraćenja proteina u ovom segmentu ne remete ćelijsku adheziju koja je u najvećoj meri zavisna od EC1-EC4 domena (Slika 85), ali da remete funkciju citoplazmatskog CTD domena. Samim tim, je moguće da kod ovih

varijanti dolazi do poremećaja ranije pomenute interakciju sa GABA<sub>A</sub> receptorom. Kako se varijanta detektovana kod naših pacijenata nalazi u okviru 116 aminokiselina pomoću kojih se PCDH19 vezuje sa GABA<sub>A</sub> receptor (Bassani et al., 2018), ovo bi mogao biti mehanizam nastanka bolesti kod naših pacijenata.

U kontekstu sve šireg razumevanja mehanizama bolesti vezanih za *PCDH19* gen, sve veću pažnju privlači spektar oboljenja kod muških osoba. Hemizigotne osobe muškog pola opisane u literaturi izuzev u nekoliko pojedinačnih slučajeva u kojima su opisani PAS, ili IO bili zdravi (Tarpey et al., 2009; van Harssel et al., 2013). Kolc i Sar. su napravili analizu grupe od 15 muških osoba koji su bili nosioci *PCDH19* varijanti, od kojih je devet imalo somatski mozaicizam, a preostalih šest su nosili germinativne varijante (Kolc et al., 2020a). Među osobama sa mozaicizmom samo jedna nije imala epilepsiju i većina je imala udružene kognitivne i psihijatrijske komorbiditete dok su u grupi pacijenata sa germinativnim varijantama svi sem dva pacijenta bili zdravi. Jedan od dva obolela pacijenta sa germinativnom varijantom je imao IO, PAS i impulsivno ponašanje, ali nije imao epilepsiju, dok je drugi imao epileptički sindrom povezan sa febrilnom infektivnom bolešću (eng. *febrile infection related epilepsy syndrome*, FIRES), te su autori zaključili da bolest verovatno nije povezana sa ovom genskom varijantom (Kolc et al., 2020a). Pacijenti u našem istraživanju nisu imali značajne komorbiditete, što se najverovatnije može objasniti kasnijim početkom bolesti.

Karakterističan deo *PCDH19* fenotipa su klasteri napada često precipitirani febrilnošću što kod naših pacijenata nije bio slučaj, verovatno zbog kasnog početka bolesti. Naime, većina obolelih ima brojne farmakorezistentne napade tokom prve decenije života koji se po početku puberteta spontano proređuju, nezavisno od primenjenih AEL (Trivisano et al., 2018). Moguće da je ovaj fenomen uzrokovan prirodnim porastom alopregnanolona u puberteta, čiji deficit je hipotetisani deo mehanizma bolesti kod ovih pacijenata (Tan et al., 2015). Shodno tome je moguće da kod naših pacijenata nisu bili prisutni neophodni uslovi za razvoj ovako teškog fenotipa, kao ni udruženih komplikacija poput PAS i IO zbor relativno kasnog početka bolesti. Iako epilepsija kod najvećeg broja obolelih počinje tokom prve tri godine života (Smith et al., 2018), za ovu bolest je uobičajena velika fenotipska varijabilnost, čak i okviru istih porodica i opisani su slučajevi početka bolesti čak i do 20. godine života (Yang et al., 2019). Šta više, neki autori su opservirali relativno kasniji početak bolesti kod muških pacijenata (Kolc et al., 2020a), što odgovara i našim rezultatima.

Većina pacijenata ima napade sa temporalnim ili frontalnim početkom, ali su opisani i oni sa početkom u posteriornom kvadrantu (Samanta, 2020; Smith et al., 2018; Trivisano et al., 2018). Kod pacijenta 9 je registrovan napad sa početkom u frontalnom lobusu sa nemotornim početkom što se registruje kod približno 60% pacijenata (Trivisano et al., 2018). Pacijent 10 nije imao napade tokom VEM, ali je imao interiktalni nalaz kao i hipometabolizam glukoze na FDG-PET koji upućuje na epilepsiju posteriornog kvadranta (Tabela 38). Afektivni iktalni simptomi koji se često opisuju kod ovih pacijenata nisu registrovani, što može biti posledica uzrasno zavisne evolucije iktalne semiologije što je takođe karakteristično za *PCDH19* epilepsiju (Marini et al., 2012). Poput naših pacijenata, većina pacijenata sa epilepsijom povezanom sa *PCDH19* genom nema vidljivu leziju na MR mozga, ali su opisani slučajevi MCD (Kurian et al., 2018; Lotte et al., 2016), ali i HS (Lotte et al., 2016), kao i slučajevi somatskih varijanti u *PCDH19* genu u MCD (Lai et al., 2022).

U ispitivanoj grupi pacijenata je prinos sekvenciranja *PCDH19* gena bio 2,1% kohorte, što je približno prethodnim studijama koje su obuhvatile sličnu populaciju pacijenata (Hildebrand et al., 2016; Krenn et al., 2020; Perucca et al., 2017b). U tom kontekstu je važno napomenuti da suprotno većini studija koje su istraživale karakteristike nosilaca *PCDH19* varijanti, koje su konstituisali uglavnom pacijenti sa karakterističnim kliničkim fenotipom, u ove kohorte su regrutovani pacijenti bez tipičnih kliničkih obeležja, encefalopatije, IO ili psihijatrijskih komorbiditeta. Tako je u studiji Krenn i sar. patogena varijanta u ovom genu je opisana kod devojčice sa nelezionom FLE koja nije imala ni febrilne napade niti IO (Krenn et al., 2020). Hildebrand i sar. su u svojoj grupi pacijenata opisali 3 *PCDH19* VUS

(Hildebrand et al., 2016). Jedna od njih je bila lokalizovana u kadherinskom domenu i zadovoljavala ACMG-AMP kriterijume za verovatno patogenu, ali je zbog toga što je detektovana kod obolelog muškarca i njegovog rođenog brata klasifikovana kao VUS. Ovo sugeriše da je klinički fenotip *PCDH19* vezanih oboljenja možda mnogo širi od onog zastupljenog u većini prethodnih studija i očekuje se da će sa sve većom upotrebom NGS broj pacijenata sa NAFE udruženom sa varijantama u ovom genu biti sve veći.

Interesantno je napomenuti da je kod naših pacijenata detektovana još jedna varijanta, (c.2987\_2988insCGACGGGACAGGTTATGCAGACAGTTTATCACTGACGGGTCTGCGTTGGC CTGCAGGAGAGAGACCATACACAGACTCAAACGTGTGCACAGGGACACAGCTGGCATCG CGCTGTCTATTGA, p.Glu996AspfsTer79) lokalizovana u egzonu šest i koja odgovara inserciji od 122 nukleotida. Ista sekvencija je pretragom u BLAST, locirana u *NPRL3* genu na 16. hromozomu. Kako je locirana u poslednjem egzonu *PCDH19* gena, kako je translokacija između 16. i X hromozoma malo verovatna, i kako je u prilikom sekvenciranja registrovan samo jedan varijanti prepis, zaključeno je da se u ovom slučaju gotovo sigurno ne radi o kauzalnoj varijanti i da je najverovatnije u pitanu artefakt sekvenciranja. Međutim, ovakav artefakt može sugerisati postojanje izmene u *NPRL3* genu kod ovog pacijenta, čije dokazivanje bi zahtevalo ponovnu molekularno-genetsku analizu, možda primenom neke druge metode poput direktnog sekvenciranja.

Epilepsija povezana sa *PCDH19* genom je tipično farmakorezistentna. Lotte i sar. su našli da su pacijenti sa *PCDH19* varijantama imali prosečno 5,5 terapijskih pokušaja sa različitim AEL, a preko 98% njih je lečeno sa dva ili više AEL (Lotte et al., 2016). Interesantno je da je u ovoj kao i ranijim studijama (Higurashi et al., 2013) pokazana superiornost klobazama i bromida u odnosu na druge AEL, što se verovatno može dovesti u vezu sa GABA-ergičkom disfunkcijom koja je verovatno deo mehanizma bolesti. Što je posebno interesantno, kod ovih pacijenata nije pokazan razvoj tolerancije na klobazam koji se viđa kod drugih epileptičkih sindroma (Lotte et al., 2016). Pacijent 9 je neuspešno lečen pomoću pet AEL (Tabela 38), što je u skladu sa rezultatima ovih studija u kojima je pokazan slab terapijski odgovor na AEL koji su primenjeni kod ovog pacijenta. Pacijent 10 je do trenutka izrade ove disertacije lečen samo pomoću dva AEL zbog relativno skorijeg vremena postavljanja dijagnoze. U oba slučaja je terapijski pokušaj sa klobazamom i bromidom razumna terapijska strategija. Kombinacija stiripentola, valproata i klobazama koja se često primenjuje kod obolelih od Dravet sindroma je takođe bila efikasna u jednoj studiji (Trivisano et al., 2015a), ali je moguće da se ona može objasniti visokim koncentracijama klobazama koje se često viđaju u ovoj terapijskoj kombinaciji usled inhibicije njegovog metabolizma valproatom. Perampanel je pokazao dobar rezultat u jednoj studiji na vrlo malom broju pacijenata, te je neophodno dalje istraživanje ove opcije (Nissenkorn et al., 2023).

S obzirom na utvrđeni deficit alopregnanolona, kod ovih pacijenata je pokušano sa primenom njegovog analoga, ganaloksona. Rezultati jedne randomizovane kontrolisane duplo slepe kliničke studija druge faze su pokazali veću redukciju napada sa ganaloksonom u odnosu na placebo, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost, te je neophodno sprovesti studije sa većim brojem pacijenata radi definitivnog zaključka (Sullivan et al., 2023). Interesantno je istaći da su najbolji terapijski odgovor u ovoj studiji imali pacijenti sa zabeleženim niskim vrednostima alopregnanolona, te je moguće da bi selekcija ovakvih pacijenata bila dobra strategija.

Kortikosteroidna terapija je bila uspešna u suzbijanju klastera napada, ali bi se napadi po obustavi terapije po pravilu vraćali (Higurashi et al., 2015). Interesantno je da je u istoj studiji pokazana supresija encefalopatskih EEG promena kod jednog i uspešna profilaksa napada tokom febrilnih epizoda kod drugog pacijenta, tako da je moguće da njihova primena ima mesta u specifičnim kliničkim situacijama.

Vrlo malo podataka o operativnom lečenju kod ovih pacijenata postoji u do sada dostupnoj literaturi. Kurian i sar. su opisali dve pacientkinje sa *PCDH19* varijantama i FCD koje su po operativnom lečenju imale redukciju ali ne i dugotrajnu remisiju napada (Kurian et al., 2018). Slično

tome, Nagarajan i sar. su opisali jedan slučaj epilepsije sa FCD i postoperativnom redukcijom napada (Nagarajan et al., 2022). Međutim, s obzirom na spontanu remisiju napada koja nastupa kod mnogih pacijenata po početku puberteta kao i relativno loš operativni ishod kod drugih genetski determinisanih epilepsija sa poremećajem sinaptičke transmisije (Stevlink et al., 2018), selekcija pacijenata kao i procena optimalnog vremena za operativno lečenje mora biti sprovedena od slučaja do slučaja. Kod naših pacijenata epileptogena zona nije precizno utvrđena tako da u ovom trenutku nisu razmatrani kao hirurški kandidati, ali bi u perspektivi postojanje genetske dijagnoze moralo ući u procenu podobnosti za hirurško lečenje ukoliko bi se epileptogena zona bliže odredila.

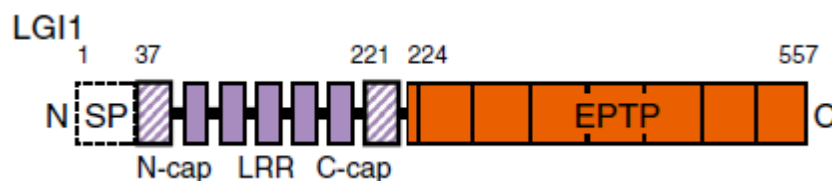
Prvi gen koji ne kodira jonski kanal koji je povezan sa epilepsijom je bio *LGII*. Prvi put je opisan 1998. godine u ćelijama glioblastoma (Chernova et al., 1998) dok je sa epilepsijom prvi put povezan od strane dve nezavisne grupe istraživača 2002. godine koji su istraživali porodice sa ADEAF (Kalachikov et al., 2002; Morante-Redolat et al., 2002).

Tabela 47 Molekularno-genetičke karakteristike *LGII* gena

<b><i>LGII</i></b>		
OMIM	*604619	
Citogenetska lokacija	10q23.33	
Broj egzona	8	
Dužina gena	36,9 kb	
Dužina transkripta	2,2 kb	
Oznaka proteina	LGII	
Veličina proteina	557 AK, 64 kDa	
<b>Proteinski domeni</b>	<b>Segmenti</b>	<b>Funkcija</b>
<b>NTD</b>	Signalni peptid	Sortiranje u endoplazmatski retikulum
	5 LRR	Aksonsko navođenje, vezivanje proteina
<b>CTD</b>	7 EPTP	Vezivanje za proteine ADAM familije

OMIM – eng. *Online Mendelian Inheritance in Man*; kb – kilobaza; nt – nukleotida; AK – aminokiselina; kDa – kilodalton; NTD – N terminalni domen; LRR – eng. *leucine rich repeat*; CTD – C terminalni domen; EPTP – epitempin; EAR – eng. *epilepsy-associated repeat*

Nalazi se na kratkom kraku 10. hromozoma i pripada familiji *LGI* gena u kojoj su i *LGI2*, *LGI3* i *LGI4* sa kojima ima 60-70% homologije (Gu et al., 2002). Ekspimiran je dominantno u moždanim neuronima i detektovan je i u inhibitornim i u ekscitatornim neuronima (Ohkawa et al., 2013). Distribucija ekspresije se menja tokom razvoja. Tokom embrionalnog perioda nije vezana za diferencirane neurone već je difuzna i vezana za migrirajuće nezrele neurone, što sugerise važnu ulogu *LGII* u moždanom razvoju. U adultnom mozgu je njegova ekspresija najveća u strukturama limbičkog sistema i V i VI sloju neokorteksa (Silva et al., 2011).

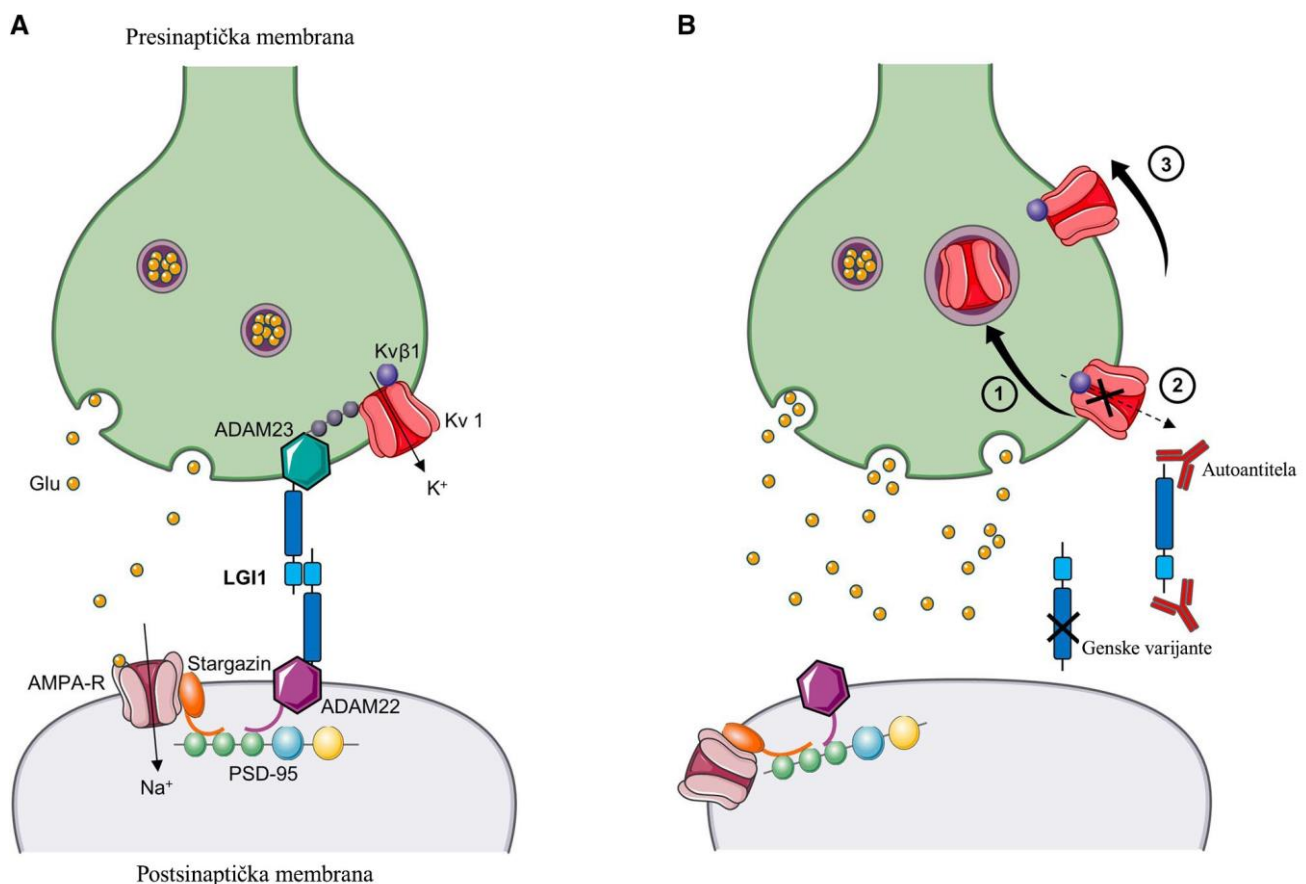


Slika 87 Shematski prikaz strukture *LGII* proteina, adaptirano iz Yamagata et al., 2018

Sastoji se od osam egzona od kojih prvih šest kodiraju NTD, dok preostala dva kodiraju CTD domen (Yamagata et al., 2018). NTD domen sadrži signalni peptid koji omogućava sortiranje peptida u endoplazmatskom retikulumu gde biva glikoziliran i gde signalna sekvenca bila odstranjena da bi nastao

zrelu protein od 60 kDa (Slika 87) (Sirerol-Piquer et al., 2006). U NTD domenu se nalaze i motiv sačinjen od četiri i po ponovka sekvencije bogate leucinom (eng. *leucine rich repeat*, LRR) koja je ovičena regionima bogatim cisteinom. LRR učestvuje u vezivanju za druge proteine i verovatno igra ulogu u aksonskom navođenju (Hernández-Miranda et al., 2010). U CTD domenu se nalazi sedam ponovaka epitemptina, drugačije nazvanog ponovak povezan sa epilepsijom, (eng. *epilepsy associated repeat*, EAR), koji je viskohomologan sa sličnom sekvencom u drugim genima povezanim sa epilepsijom (Scheel et al., 2002). Epitemptin se vezuje za ADAM22, ADAM23 i ADAM11 koji su deo transmembranske familije ADAM metaloproteaza. Vezivanjem LGI1 za ovaj proteinski kompleks nastaje kompleks koji učestvuje u regulaciji neurotransmisije (Fukata et al., 2006).

U ClinVar registru je prijavljena 31 patogen i 14 verovatno patogenih malih varijanti među kojima su najbrojnije *nonsense* varijante (33%), potom *frameshift* (31%), *missense* (20%) i varijante koje utiču na splajsing (13,3%) ("LGI1[gene] - ClinVar - NCBI," n.d.). Patogene varijante u *LGI1* genu dovode do LOF i haploinsuficijencije. Većina *missense* varijanti dovodi do poremećaja sekrecije proteina, dok preostale dovode do redukcije vezivanja LGI1 za ADAM proteine ili LGI1 dimerizaciju koja je neophodna za regulaciju AMPA transmisije (Yokoi et al., 2015), kao i Kv1 kalijumskih struja (Slika 88) (Zhou et al., 2023). Interesantno je da vezivanje autoantitela protiv LGI1 ima slične molekularne konsekvence što dovodi do autoimunog limbičkog encefalitisa sa neuromiotonijom, epileptičkim napadima i amnestičkim sindromom (Slika 88) (Lai et al., 2010). Ovo podržava hipotezu da je poremećaj interakcije LGI1 i ADAM22 proteina ključna u patogenezu epilepsije kod LGI1 poremećaja.



Slika 88 Shematski prikaz funkcije LGI1 u sinaptičkoj organizaciji: A organizacija LGI interakcije sa ADAM proteinima i posredne interakcije sa Kv1 kanalom i AMPA receptorom; B patogene disrupcija LGI1 posredstvom patogene varijante ili autoantitela usled internalizacije Kv1 kanala (1), smanjene Kv1 struje usled brze inaktivacije (2) ili uklanjanja Kv1 kanala i AMPA receptora iz sinaptičke pukotine (3). Smanjenje kalijumskih struja dovodi do povećane ekskrecije neurotransmitera u sinaptičku pukotinu, adaptirano iz Baudin et al., 2021

*LGII* varijante se tipično povezane sa ADEAF, familijarnim sindromom FE koji najčešće počinje u drugoj ili trećoj deceniji koji karakteriše pojava fokalnih napada sa očuvanom svešću i auditornim simptomima o kome je detaljno bilo reči u ranijem tekstu (Poglavlje 1.5.4). U ovom sindromu je zabeležena veliku fenotipska varijabilnost, čak i među članovima iste porodice i nisu pokazane fenotipsko-genotipske korelacije (Nobile et al., 2009). Šta više, lokacija kao ni tip varijante u okviru *LGII* gena nije povezan sa njenom penetrantnošću (Rosanoff and Ottman, 2008). Važno je istaći da iako je često percipirana kao benigni sindrom, samo jedna trećina pacijenata je postigla petogodišnju terminalnu remisiju dok je oko jedne trećine bolesnika bilo farmakorezistentno u grupi pacijenata od 123 pacijenta (Bisulli et al., 2018). Približno 14% pacijenata u ovoj studiji nije imalo napade sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, što je posebno važno jer je opservirano da ovi pacijenti često imaju lošu terapijsku komplijansu jer percipiraju svoje simptome kao benigne (Furia et al., 2022).

Sveukupno, radi se o sindromu boljeg terapijskog odgovora i prognoze u odnosu na MTLE, pogotovu kada je ona udružena sa HS: Berkovic i sar. su analizirali 75 porodica sa TLE od koju su četiri zadovoljavale kriterijume za dijagnoza ADEAF (S. F. Berkovic et al., 2004). Samo u dve ADEAF porodice su dokazane *LGII* varijante, dok nijedna od preostale 71 porodice nije imala *LGII* varijante. Ovakvi rezultati sugerišu da su *LGII* varijante češće spojive sa farmakosenzitivnom epilepsijom. Šta više, uprkos učešća *LGII* u embrionalnom razvoju mozga (Silva et al., 2011) kao i prisustvu poremećaja neuronalne migracije u animalnim modelima (Liu et al., 2019; Silva et al., 2020), kod nosilaca *LGII* varijanti nije pokazano prisustvo malformacija kortikalnog razvoja i pacijenti po pravilu imaju uredan nalaz MR mozga (Furia et al., 2022). Kako uprkos definisanim molekularnim konsekvencama *LGII* varijanti, njihov mehanizam epileptogeneze nije u potpunosti razjašnjen, kao i s obzirom na povoljan odgovor na konvencionalne AEL kod većine pacijenata, do trenutka izrade ove disertacije nisu definisane potencijalne opcije precizne medicine.

Varijante u *LGII* genu su često detektovane u kohortama pacijenata sa FE. U Epi4K studiji, *LGII* gen je bio drugorangirani (Epi4K consortium and EPGP, 2017), a u Epi25 studiji prvorangirani gen po opterećenju patogenim varijantama kod pacijenata sa NAFE (Epi25 Collaborative, 2019). U grupi pacijenata sa familijarnom NAFE u kojoj je 1,5% nosilo ovu varijantu (Epi4K consortium and EPGP, 2017), dok su u analizi Li i sar. ove varijante detektovane kod 0,6% pacijenata (J. Li et al., 2022). Međutim u našoj studiji nijedna VOI nije detektovana u ovom genu. Moguće objašnjenje je u relativno malom uzorku u našoj studiji, međutim u studiji Tsai i sar. koja je obuhvatila preko 500 pacijenata takođe nije registrovan nijedan nosilac varijante u ovom genu (Tsai et al., 2018), kao ni u studiji Krenn i sar. (Krenn et al., 2020), te je moguće da su pacijenti sa ovom varijantom relativno manje zastupljeni u kohortama u kojim dominiraju pacijenti sa FRE.

U ranijem tekstu je istaknuto da je etiologija najvažniji prediktor kliničkog toka, odgovora na AEL, kao i uspešnosti hirurškog lečenja fokalne epilepsije (Shorvon et al., 2019). Razumevanje etiologije fokalne epilepsije je transformisano uvođenjem magnetne rezonancije visoke rezolucije i genskim sekvenciranjem nove generacije (Thomas and Berkovic, 2014) čime je definisana strukturalna kao genetska etiologija kod mnogih pacijenata koji su do tada klasifikovani kao oboleli od epilepsije nepoznatog uzroka.

Naša istraživanje je bilo fokusirano na definisanje distribucije strukturalne etiologije fokalne epilepsije. Njena distribucija je u velikoj meri zavisna od posmatrane kohorte bolesnika, kao i metodološkog pristupa njenoj definiciji. Naša studija je obuhvatila veliku i ekstenzivno fenotipski definisanu grupu bolesnika sa FE jednog tercijernog epileptološkog centra. Novije studije ovakvog dizajna su retke i većina ih je fokusirana na specifične populacije, kao što su kandidati za hirurško lečenje ili novooboleli pacijenti sa fokalnom epilepsijom, dok su starije studije limitirane dostupnim dijagnostičkim mogućnostima u trenutku njihovog izvođenja. Šta više, princip rada našeg Centra obezbeđuje veliku pouzdanost definisanih sindromskih i etioloških dijagnoza. Zbog toga naša studija

daje savremen i precizan uvid u strukturu pacijenata epileptoloških centara i ilustruje učestalost etioloških kategorija sa kojima se uobičajeno srećemo u okviru kliničke prakse.

Sa sve većim prepoznavanjem doprinosa genetskih determinanti u nastanku bolesti raste i potreba za utvrđivanjem proporcije bolesnika kod kojih postoje radiološki i klinički pokazatelji genetske osnove. Ranije studije su jasno definisale pozitivnu porodičnu anamnezu, rani početak i odsustvo lezije na MR mozga kao signifikantne prediktore (Ottman et al., 1996a, 1996a). Međutim, nijedna od njih nije izučavala učestalost ovih pacijenata u kohortama epileptoloških centara, niti je uzimala u obzir nalaz MR mozga visoke rezolucije koja je postala dijagnostički standard u modernoj epileptologiji. Zbog toga smatramo da naša studija daje dragocene informacije o zastupljenosti ovih pacijenata u svakodnevnoj praksi, kao i među pacijentima različitog radiološkog nalaza.

U cilju definisanja doprinosa savremene molekularno-genetičke dijagnostike razjašnjenju etiopatogenetskih procesa koji doprinose nastanku fokalne epilepsije analizirana je selektovana grupa pacijenata vrlo slična kohortama uključenih u prethodna istraživanja ovog tipa. Korišćen je posebno dizajniran NGS genski panel kojim je sprovedeno čitanje velike dubine. Ovim je obezbeđena velika tačnost dobijenih rezultata čime je izbegnuta potreba za resekvenciranjem direktnim (Sanger) sekvenciranjem. U informatičkoj obradi dobijenih sekvenci korišćeni su protokoli definisani od strane Broad instituta koji predstavljaju savremeni standard u bioinformatički, čime je obezbeđena visoka validnost izdvojenih genskih varijanti. Ovo je prva studija genetske epilepsija u našoj zemlji koja je prema broju uključenih pacijenata, njihovoj strukturi, dometu dijagnostičke obrade kao i primenjenim metodama molekularne genetike merljiva sa studijama iz drugih evropskih centara.

Učinjenim sekvenciranjem je postignut visok dijagnostički prinos merljiv sa studijama koje su u analizu uključile daleko veći broj gena, čime je opravdan protokol korišćen pri selekciji pacijenata i još jednom potvrđeno da među bolesnicima sa fokalnom epilepsijom koji nemaju MR leziju, imaju pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodna oboljenja i imaju početak boleti pre 35. godine života često imaju genetski determinisanu bolest. Šta više, našim istraživanjem je još jednom potvrđen veliki značaj varijanti u *DEPDC5*, *NPRL2*, *SCN1A* i *PCDH19* gena u nastanku čiste fokalne farmakorezistentne epilepsije koja nije praćena značajnom intelektualnom onesposobljenošću čime je definisana potencijalna dijagnostička strategija za genetsko ispitivanje ove grupe bolesnika u uslovima ograničenih dijagnostički resursa. Našom studijom je definisano pet ranije neopisanih verovatno patogenih varijanti, kao i dve VUS koje su odlični kandidati za dalje funkcionalne ili segregacione studije. Sem toga, opisane su nove kliničko-genetske asocijacije koje predstavljaju dobru osnovu za dalje istraživanje u većim grupama pacijenata sa varijantama u specifičnim genima.

Ipak, pri interpretaciji naših rezultata je neophodno uzeti u obzir neka metodološka ograničenja. Na prvom mestu, definisanje etiologije bolesti je bilo ograničeno na njenu strukturu kao i, za manji broj pacijenata, genetsku osnovu bolesti. Naša metodologija nije obuhvatala sistematičnu neuroimunološku evaluaciju kojim je moguće da bi bili definisani manji broj pacijenata sa imunski posredovanom epilepsijom koji nisu detektovani pristupom definisanom našim metodološkim protokolom. Potom, definicija strukturne etiologije je bila ograničena na radiološki definisanu etiologiju epileptogene lezije koja bi u cilju definitivne dijagnoze zahtevala patohistološku analizu, koja je bila dostupna isključivo kod hirurški lečenih pacijenata. Ipak, smatramo da kako ova grupa nije reprezentativna za celokupnu populaciju pacijenata epileptoloških centara, pristup koji je primenjen u našoj studiji omogućava najbolji uvid u etiologiju najveće grupe ovih pacijenata. Na kraju, molekularno-genetička analiza nije obuhvatila sve pacijente iz naše kohorte kod kojih je postojala klinička opravdanost za sprovođenje ovakvog ispitivanja, kao ni srodnike obolelih, što bi moglo doprineti dokazivanju patogenosti za dve registrovane VUS.

Ipak, ovim istraživanjem je dokazana opravdanost genetskog testiranja adultnih pacijenata sa sindromski čistom farmakorezistentnom FE, koje obećava dalju perspektivu u uključivanju veće kohorte



pacijenata kao i analizi većeg broja gena. Daljom ekspanzijom razumevanja genskih varijanti i njihovog odraza na kliničko-radiološki fenotip u budućnosti može omogućiti lečenje personalizovanom ili preciznom medicinom, razvoj molekula usmerenih prema specifičnim molekularnim mehanizmima kao i pomoći pri selekciji kandidata za operativno lečenje.

## 6 Zaključci

Zaključci iz naših rezultata proistekli su iz analize velike grupe od 965 pacijenata sa fokalnom epilepsijom ispitivanih u Centru za epilepsije Klinike za neurologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije tokom jedanaestogodišnjeg perioda kao i pionirske studije genetske osnove fokalne epilepsije u našoj zemlji na manjoj grupi pacijenata od 96 pacijenata.

1. **Kliničke i demografske karakteristike ispitivane populacije:** Oboleli od FE u ispitivanoj grupi pacijenata su bili uravnotežene polne distribucije, prosečne starosti 32 godine, starosti na početku bolesti 14 godina, i sledeće distribucije lobarnih dijagnoza: TLE 40,3%, FLE 13,4%, PQE 10,9%, ILE 1,3%, TLE+ 2,0%, dok je 32,1 imalo neutvrđenu lobarnu dijagnozu. Ukupno 16,6% pacijenata je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodne poremećaje. Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju je imalo 14,1%, jedan spontani epileptički napad 0,6% i febrilne napade 1,9%. Distribucija dijagnoza među srođnicima od I do III stepena srodstva je bila uravnotežena. Najviše pacijenata je imalo samo jednog obolelog srođnika (1,3%), a najveći broj obolelih srođnika je bio sedam.

2. **Zastupljenost NSFE i SFE različite strukturne etiologije i njen odnos sa lobarnom dijagnozom FE:** Približno tri četvrtine pacijenata su imali NSFE (74,2%), dok je oko jedna četvrtina imala SFE (25,8%). Oboleli od NSFE su imali duže trajanje bolesti (17 vs. 11 godina,  $p < 0,001$ ) i češće su imali TLE u odnosu na pacijente sa SFE (42,6% vs. 34,0%,  $p < 0,001$ ). Prinos MR u definisanju strukturne etiologije je bio 66,0%. Najčešća lezija je bila HS (22,1%), potom FCD (11,1%), gliozna (10,7%), tumor (9,0%) KM (6,5%), VM (5,2%) i AIE (1,3%). Najčešća etiologija TLE je bila HS (47,0%), dok je FLE najčešće bila neutvrđene etiologije, a potom udružena sa FCD (24,8%). PQE je podjednako često bila neutvrđene etiologije i povezana sa FCD (22,9%). ILE je najčešće bila uzrokovana FCD (53,8%), dok je TLE+ najčešće bila udružena sa HS (73,7%).

3. **Porodična anamneza na epilepsiju i srodne poremećaje među pacijentima sa NSFE i SFE:** Oboleli od NSFE su značajno češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu u odnosu na obolele od SFE kada su posmatrane sve dijagnoze (19,1% vs. 9,2%,  $p < 0,001$ ) kao i kada je posmatrana samo epilepsija (16,1% vs. 8,4%,  $p < 0,003$ ) kod srođnika. Pacijenti sa NLFE (23,7% vs. 9,2%,  $p < 0,001$ ) i HS (15,5% vs. 9,2%,  $p = 0,028$ ) su značajno češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodna oboljenja u odnosu na obolele od SFE. Pacijenti sa SFE su imali najviše dva obolela srođnika (tri pacijenta), dok su oboleli od NLFE imali najviše sedam obolelih srođnika (dva pacijenta), oboleli sa HS (dva pacijenta) i KPE najviše četiri obolela srođnika (jedan pacijent).

4. **Starost na početku epilepsije i lobarna dijagnoza među pacijentima sa NSFE različite etiologije i SFE:** Celokupna grupa pacijenata sa NSFE je imala značajno raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE (13 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ). Pacijenti sa HS (12 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ) i KPE (11 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ) su imali značajno raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE, dok ova razlika nije bila statistički značajna između grupe pacijenata sa NLFE i SFE (15 vs. 18 godina,  $p < 0,001$ ). Oboleli od NSFE su značajno češće bolovali od TLE (63,9% vs. 47,5%,  $p < 0,001$ ) i ređe bolovali od ETLE (36,1% vs. 52,5%,  $p < 0,001$ ) u odnosu na pacijente sa SFE. Pacijenti sa NLFE su češće imali TLE (50,7%) dok su FLE i PQE češće imali pacijenti sa SFE (26,8% i 23,5%,  $p < 0,001$ ).

5. **Odnos porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje sa starošću na početku epilepsije i lobarnom dijagnozom kod pacijenata sa NSFE i SFE:** U celokupnoj grupi obolelih od NSFE (9 vs. 14 godina,  $p < 0,001$ ), kao i u grupi NLFE (12 vs. 17 godina,  $p < 0,001$ ) i KPE (3 vs. 12,5 godina,  $p < 0,001$ ) su pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom imali značajno raniji početak bolesti, dok u grupi obolelih sa HS (6 vs. 13 godina,  $p = 0,086$ ) kao i SFE (17 vs. 18 godina,  $p = 0,483$ ) ova razlika nije bila statistički značajna. Šta više, početak bolesti kod pacijenata sa NSFE i

pozitivnom porodičnom anamnezom je bio najkasnije do 39. godine života (NLFE do 34, HS do 39, KPE do 39, godine), dok je kod pacijenata sa SFE bio do 44. godine. U grupi pacijenata sa negativnom porodičnom anamnezom, pacijenti sa NSFE, NLFE i SFE su oboljevali do 79. godine, dok su pacijenti sa HS oboleli do 74, a oboleli od KPE do 64. godine. Nije nađena statistički značajna razlika u distribuciji lobarnih dijagnoza kod pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje.

**6. Učestalost ultra-retkih varijanti u najčešćim genima povezanim sa nastankom FE:** Sekvenciranjem sedam selektovanih gena (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A*, *PCDH19*) registrovano je osam VOI kod 10 (10,4%) pacijenata od kojih su sedam nove koje nisu prethodno registrovane u ClinVar ili GnomAD. Pet varijanti je klasifikovano kao verovatno patogeno, dve kao VUS i jedna kao verovatno benigna. Ukupni dijagnostički prinos ovako dizajniranog panela je iznosio 7,3%. Sekvenciranja gena definisanih u Epi4K studiji (*DEPDC5*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A*, *PCDH19*) je registrovano šest VOI kod osam (8,3%) pacijenata, dok je dijagnostički prinos bio 6,2%. Sekvenciranja gena GATOR1 kompleksa (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*) je registrovano četiri VOI kod četiri (4,2%) pacijenata, dok je dijagnostički prinos bio 3,1%.

**7. Kliničke, radiološke i elektroencefalografske karakteristike nosilaca varijanti u ispitivanim genima:** Pacijenti koji su bili nosioci varijanti se nisu značajno razlikovali po starosti, polu, starosti na početku i trajanju bolesti, broju isprobanih AEL, učestalosti febrilnih napada, povreda glave, pojavi napada sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, klastera napada ili epileptičkog statusa u odnosu na pacijente koji nisu bili nosioci varijanti. Nosioci su značajno češće imali ETLE u odnosu na one koji nisu bili nosioci i kada su analizirani svi geni (60,0% vs. 18,6%,  $p = 0,011$ ), i kada su analizirani samo geni Epi4K grupe (62,5% vs. 19,3%,  $p = 0,020$ ) ili GATOR1 kompleksa (75,0% vs. 20,7%,  $p = 0,020$ ). Nije pokazana razlika u udelu nosilaca VOI između obolelih sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodna oboljenja kada su analizirani svi geni (13,8% vs. 3,2%,  $p = 0,160$ ) kao ni kada su analizirani samo geni Epi4K grupe (10,7% vs. 3,2%,  $p = 0,201$ ) kao ni samo GATOR1 kompleksa (10,7% vs. 3,2%,  $p = 0,201$ ). Nije pokazana razlika u udelu nosilaca VOI između obolelih NLFE i onih sa MR definisanom lezijom kada su analizirani svi geni (20,0% vs. 7,9%,  $p = 0,209$ ) kao ni kada su analizirani samo geni Epi4K grupe (10,0% vs. 7,9%,  $p = 0,670$ ) kao ni samo GATOR1 kompleksa (10,0% vs. 7,9%,  $p = 0,670$ ).

**8. Utvrđivanje prethodno neregistrovanih varijanti od interesa u ispitivanim genima:** Među VOI utvrđenim u našem istraživanju samo jedna prethodno opisana verovatno benigna varijanta je registrovana u *GRIN2A* genu kod jednog (1,1%) pacijenta. Nije registrovana nijedna VOI u *LGII* genu. Dve nove verovatno patogene varijante (jedna frameshift i jedna SNV kanoničnog mesta splajsovanja) su definisane u *DEPDC5* genu kod dve (2,2%) pacijentkinje od kojih je jedna alelska sa ranije opisanom frameshift varijantom i označava moguću mutacionu vruću tačku koja zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *NPRL2* genu kod jedne (1,1%) pacijentkinje sa uspešno operativno lečenom TLE udruženom sa HS, što predstavlja prvi opisani slučaj varijante u *NPRL2* genu povezane sa HS. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *SCN1A* genu kod dva (2,2%) pacijenta koji nisu u srodstvu koja sugerise postojanje moguće mutacione vruće tačke ili founder efekta u našoj populaciji, što zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *PCDH19* genu u mozaičnoj formi kod dva (2,2%) muška pacijenta koja sugerise postojanje moguće mutacione vruće tačke koja zahteva dalje ispitivanje. Dve nove VUS su registrovane kod dva (2,2%) pacijenta, jedna u *NPRL3* i druga u *GRIN2A* genu, koje zahtevaju dalje ispitivanje.

## 7 Literatura

Abe, T., Singer, R.J., Marks, M.P., Kojima, K., Watanabe, M., Uchida, M., Hayabuchi, N., 1997. Arterial vascular abnormality accompanying cerebral cortical dysplasia. *AJNR Am J Neuroradiol* 18, 144–146.

Abou-Khalil, B., Ge, Q., Desai, R., Ryther, R., Bazyk, A., Bailey, R., Haines, J.L., Sutcliffe, J.S., George, A.L., 2001. Partial and generalized epilepsy with febrile seizures plus and a novel SCN1A mutation. *Neurology* 57, 2265–2272. <https://doi.org/10.1212/wnl.57.12.2265>

Abraira, L., Gramegna, L.L., Quintana, M., Santamarina, E., Salas-Puig, J., Sarria, S., Rovira, A., Toledo, M., 2019. Cerebrovascular disease burden in late-onset non-lesional focal epilepsy. *Seizure* 66, 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2019.02.004>

Abs, E., Goorden, S.M.I., Schreiber, J., Overwater, I.E., Hoogeveen-Westerveld, M., Bruinsma, C.F., Aganović, E., Borgesius, N.Z., Nellist, M., Elgersma, Y., 2013. TORC1-dependent epilepsy caused by acute biallelic Tsc1 deletion in adult mice. *Ann Neurol* 74, 569–579. <https://doi.org/10.1002/ana.23943>

Addis, L., Virdee, J.K., Vidler, L.R., Collier, D.A., Pal, D.K., Ursu, D., 2017. Epilepsy-associated GRIN2A mutations reduce NMDA receptor trafficking and agonist potency - molecular profiling and functional rescue. *Sci Rep* 7, 66. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00115-w>

Adessi, C., Matton, G., Ayala, G., Turcatti, G., Mermod, J.J., Mayer, P., Kawashima, E., 2000. Solid phase DNA amplification: characterisation of primer attachment and amplification mechanisms. *Nucleic Acids Res* 28, E87. <https://doi.org/10.1093/nar/28.20.e87>

Adzhubei, I., Jordan, D.M., Sunyaev, S.R., 2013. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Curr Protoc Hum Genet* Chapter 7, Unit7.20. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0720s76>

Aguglia, U., Gambardella, A., Le Piane, E., Messina, D., Oliveri, R.L., Russo, C., Zappia, M., Quattrone, A., 1998. Mild non-lesional temporal lobe epilepsy. A common, unrecognized disorder with onset in adulthood. *Can J Neurol Sci* 25, 282–286. <https://doi.org/10.1017/s0317167100034284>

Aledo-Serrano, Á., Valls-Carbó, A., Fenger, C.D., Groeppel, G., Hartlieb, T., Pascual, I., Herraiz, E., Cabal, B., García-Morales, I., Toledano, R., Budke, M., Beltran-Corbellini, Á., Baldassari, S., Coras, R., Kobow, K., Herrera, D.M., Del Barrio, A., Dahl, H.A., Del Pino, I., Baulac, S., Blumcke, I., Møller, R.S., Gil-Nagel, A., 2023. D-galactose Supplementation for the Treatment of Mild Malformation of Cortical Development with Oligodendroglial Hyperplasia in Epilepsy (MOGHE): A Pilot Trial of Precision Medicine After Epilepsy Surgery. *Neurotherapeutics* 20, 1294–1304. <https://doi.org/10.1007/s13311-023-01395-z>

Algret, R., Fernandez-Martinez, J., Shi, Y., Kim, S.J., Pellarin, R., Cimermanic, P., Cochet, E., Sali, A., Chait, B.T., Rout, M.P., Dokudovskaya, S., 2014. Molecular Architecture and Function of the SEA Complex, a Modulator of the TORC1 Pathway\*. *Molecular & Cellular Proteomics* 13, 2855–2870. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.039388>

Allen, A.S., Epi4K Consortium, Epilepsy Phenome/Genome Project, Berkovic, S.F., Cossette, P., Delanty, N., Dlugos, D., Eichler, E.E., Epstein, M.P., Glauser, T., Goldstein, D.B., Han, Y., Heinzen, E.L., Hitomi, Y., Howell, K.B., Johnson, M.R., Kuzniecky, R., Lowenstein, D.H., Lu, Y.-F., Madou, M.R.Z., Marson, A.G., Mefford, H.C., Esmaeeli Nieh, S., O'Brien, T.J., Ottman, R., Petrovski, S.,

Poduri, A., Ruzzo, E.K., Scheffer, I.E., Sherr, E.H., Yuskaitis, C.J., Abou-Khalil, B., Alldredge, B.K., Bautista, J.F., Berkovic, S.F., Boro, A., Cascino, G.D., Consalvo, D., Crumrine, P., Devinsky, O., Dlugos, D., Epstein, M.P., Fiol, M., Fountain, N.B., French, J., Friedman, D., Geller, E.B., Glauser, T., Glynn, S., Haut, S.R., Hayward, J., Helmers, S.L., Joshi, S., Kanner, A., Kirsch, H.E., Knowlton, R.C., Kossoff, E.H., Kuperman, R., Kuzniecky, R., Lowenstein, D.H., McGuire, S.M., Motika, P.V., Novotny, E.J., Ottman, R., Paolicchi, J.M., Parent, J.M., Park, K., Poduri, A., Scheffer, I.E., Shellhaas, R.A., Sherr, E.H., Shih, J.J., Singh, R., Sirven, J., Smith, M.C., Sullivan, J., Lin Thio, L., Venkat, A., Vining, E.P.G., Von Allmen, G.K., Weisenberg, J.L., Widdess-Walsh, P., Winawer, M.R., 2013. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature* 501, 217–221. <https://doi.org/10.1038/nature12439>

Alves, I.T., Cano, D., Böttcher, R., van der Korput, H., Dinjens, W., Jenster, G., Trapman, J., 2016. A mononucleotide repeat in PRRT2 is an important, frequent target of mismatch repair deficiency in cancer. *Oncotarget* 8, 6043–6056. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13464>

Amador, A., Bostick, C.D., Olson, H., Peters, J., Camp, C.R., Krizay, D., Chen, W., Han, W., Tang, W., Kanber, A., Kim, S., Teoh, J., Sah, M., Petri, S., Paek, H., Kim, A., Lutz, C.M., Yang, M., Myers, S.J., Bhattacharya, S., Yuan, H., Goldstein, D.B., Poduri, A., Boland, M.J., Traynelis, S.F., Frankel, W.N., 2020. Modelling and treating GRIN2A developmental and epileptic encephalopathy in mice. *Brain* 143, 2039–2057. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa147>

American Electroencephalographic Society, 1994. Guideline twelve: guidelines for long-term monitoring for epilepsy. American Electroencephalographic Society. *J Clin Neurophysiol* 11, 88–110.

Annegers, J.F., Dubinsky, S., Coan, S.P., Newmark, M.E., Roht, L., 1999. The incidence of epilepsy and unprovoked seizures in multiethnic, urban health maintenance organizations. *Epilepsia* 40, 502–506. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00748.x>

Annegers, J.F., Hauser, W.A., Anderson, V.E., Kurland, L.T., 1982. The risks of seizure disorders among relatives of patients with childhood onset epilepsy. *Neurology* 32, 174–179. <https://doi.org/10.1212/wnl.32.2.174>

Annegers, J.F., Hauser, W.A., Elveback, L.R., 1979. Remission of seizures and relapse in patients with epilepsy. *Epilepsia* 20, 729–737. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1979.tb04857.x>

Annegers, J.F., Hauser, W.A., Elveback, L.R., Anderson, V.E., Kurland, L.T., 1976. Seizure disorders in offspring of parents with a history of seizures - a maternal-paternal difference? *Epilepsia* 17, 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1976.tb03375.x>

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. *Am J Hum Genet* 79, 342–350. <https://doi.org/10.1086/506459>

Arteche-López, A., Ávila-Fernández, A., Romero, R., Riveiro-Álvarez, R., López-Martínez, M.A., Giménez-Pardo, A., Vélez-Monsalve, C., Gallego-Merlo, J., García-Vara, I., Almoguera, B., Bustamante-Aragonés, A., Blanco-Kelly, F., Tahsin-Swafiri, S., Rodríguez-Pinilla, E., Minguez, P., Lorda, I., Trujillo-Tiebas, M.J., Ayuso, C., 2021. Sanger sequencing is no longer always necessary based on a single-center validation of 1109 NGS variants in 825 clinical exomes. *Sci Rep* 11, 5697. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85182-w>

Asadi-Pooya, A.A., Farzadaghi, M., 2022. Clinical characteristics of MRI-negative temporal lobe epilepsy. *Acta Neurol Belg*. <https://doi.org/10.1007/s13760-022-02145-2>

Audenaert, D., Schwartz, E., Claeys, K.G., Claes, L., Deprez, L., Suls, A., Van Dyck, T., Lagae, L., Van Broeckhoven, C., Macdonald, R.L., De Jonghe, P., 2006. A novel GABRG2 mutation associated with febrile seizures. *Neurology* 67, 687–690. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000230145.73496.a2>

Auton, A., Brooks, L.D., Durbin, R.M., Garrison, E.P., Kang, H.M., Korbel, J.O., Marchini, J.L., McCarthy, S., McVean, G.A., Abecasis, G.R., 1000 Genomes Project Consortium, 2015. A global reference for human genetic variation. *Nature* 526, 68–74. <https://doi.org/10.1038/nature15393>

Auwers, G. van der, O'Connor, B.D., 2020. *Genomics in the Cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra*. O'Reilly Media, Incorporated.

Aziz, H., Güvener, A., Akhtar, S.W., Hasan, K.Z., 1997. Comparative epidemiology of epilepsy in Pakistan and Turkey: population-based studies using identical protocols. *Epilepsia* 38, 716–722. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01242.x>

Bagnall, R.D., Crompton, D.E., Petrovski, S., Lam, L., Cutmore, C., Garry, S.I., Sadleir, L.G., Dibbens, L.M., Cairns, A., Kivity, S., Afawi, Z., Regan, B.M., Dufrou, J., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Semsarian, C., 2016. Exome-based analysis of cardiac arrhythmia, respiratory control, and epilepsy genes in sudden unexpected death in epilepsy. *Ann Neurol* 79, 522–534. <https://doi.org/10.1002/ana.24596>

Baker, E.M., Thompson, C.H., Hawkins, N.A., Wagnon, J.L., Wengert, E.R., Patel, M.K., George Jr., A.L., Meisler, M.H., Kearney, J.A., 2018. The novel sodium channel modulator GS-458967 (GS967) is an effective treatment in a mouse model of SCN8A encephalopathy. *Epilepsia* 59, 1166–1176. <https://doi.org/10.1111/epi.14196>

Baker, G.A., Gagnon, D., McNulty, P., 1998. The relationship between seizure frequency, seizure type and quality of life: findings from three European countries. *Epilepsy Res* 30, 231–240. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(98\)00010-2](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(98)00010-2)

Baldassari, S., Licchetta, L., Tinuper, P., Bisulli, F., Pippucci, T., 2016. GATOR1 complex: the common genetic actor in focal epilepsies. *J Med Genet* 53, 503–510. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-103883>

Baldassari, S., Picard, F., Verbeek, N.E., van Kempen, M., Brilstra, E.H., Lesca, G., Conti, V., Guerrini, R., Bisulli, F., Licchetta, L., Pippucci, T., Tinuper, P., Hirsch, E., de Saint Martin, A., Chelly, J., Rudolf, G., Chipaux, M., Ferrand-Sorbets, S., Dorfmueller, G., Sisodiya, S., Balestrini, S., Schoeler, N., Hernandez-Hernandez, L., Krithika, S., Oegema, R., Hagebeuk, E., Gunning, B., Deckers, C., Berghuis, B., Wegner, I., Niks, E., Jansen, F.E., Braun, K., de Jong, D., Rubboli, G., Talvik, I., Sander, V., Uldall, P., Jacquemont, M.-L., Nava, C., Leguern, E., Julia, S., Gambardella, A., d'Orsi, G., Cricchiutti, G., Faivre, L., Darmency, V., Benova, B., Krsek, P., Biraben, A., Lebre, A.-S., Jennesson, M., Sattar, S., Marchal, C., Nordli, D.R., Lindstrom, K., Striano, P., Lomax, L.B., Kiss, C., Bartolomei, F., Lepine, A.F., Schoonjans, A.-S., Stouffs, K., Jansen, A., Panagiotakaki, E., Ricard-Mousnier, B., Thevenon, J., de Bellescize, J., Catenoix, H., Dorn, T., Zenker, M., Müller-Schlüter, K., Brandt, C., Krey, I., Polster, T., Wolff, M., Balci, M., Rostasy, K., Achaz, G., Zacher, P., Becher, T., Cloppenburg, T., Yuskaitis, C.J., Weckhuysen, S., Poduri, A., Lemke, J.R., Møller, R.S., Baulac, S., 2019a. The landscape of epilepsy-related GATOR1 variants. *Genet Med* 21, 398–408. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0060-2>

Baldassari, S., Ribierre, T., Marsan, E., Adle-Biassette, H., Ferrand-Sorbets, S., Bulteau, C., Dorison, N., Fohlen, M., Polivka, M., Weckhuysen, S., Dorfmueller, G., Chipaux, M., Baulac, S., 2019b.

Dissecting the genetic basis of focal cortical dysplasia: a large cohort study. *Acta Neuropathol* 138, 885–900. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02061-5>

Balestrini, S., Chiarello, D., Gogou, M., Silvennoinen, K., Puvirajasinghe, C., Jones, W.D., Reif, P., Klein, K.M., Rosenow, F., Weber, Y.G., Lerche, H., Schubert-Bast, S., Borggraefe, I., Coppola, A., Troisi, S., Møller, R.S., Riva, A., Striano, P., Zara, F., Hemingway, C., Marini, C., Rosati, A., Mei, D., Montomoli, M., Guerrini, R., Cross, J.H., Sisodiya, S.M., 2021. Real-life survey of pitfalls and successes of precision medicine in genetic epilepsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 92, 1044–1052. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-325932>

Bank, A.M., Kuzniecky, R., Knowlton, R.C., Cascino, G.D., Jackson, G., Pardoe, H.R., Human Epilepsy Project Investigators, 2022. Structural Neuroimaging in Adults and Adolescents With Newly Diagnosed Focal Epilepsy: The Human Epilepsy Project. *Neurology* 99, e2181-2187. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000201125>

Barba, C., Blumcke, I., Winawer, M.R., Hartlieb, T., Kang, H.-C., Grisotto, L., Chipaux, M., Bien, C.G., Heřmanovská, B., Porter, B.E., Lidov, H.G.W., Cetica, V., Woermann, F.G., Lopez-Rivera, J.A., Canoll, P.D., Mader, I., D'Incerti, L., Baldassari, S., Yang, E., Gaballa, A., Vogel, H., Straka, B., Macconi, L., Polster, T., Grant, G.A., Krsková, L., Shin, H.J., Ko, A., Crino, P.B., Krsek, P., Lee, J.H., Lal, D., Baulac, S., Poduri, A., Guerrini, R., SLC35A2 Study Group, 2023. Clinical Features, Neuropathology, and Surgical Outcome in Patients With Refractory Epilepsy and Brain Somatic Variants in the SLC35A2 Gene. *Neurology* 100, e528–e542. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000201471>

Barba, C., Parrini, E., Coras, R., Galuppi, A., Craiu, D., Kluger, G., Parmeggiani, A., Pieper, T., Schmitt-Mechelke, T., Striano, P., Giordano, F., Blumcke, I., Guerrini, R., 2014. Co-occurring malformations of cortical development and SCN1A gene mutations. *Epilepsia* 55, 1009–1019. <https://doi.org/10.1111/epi.12658>

Barcia, G., Fleming, M.R., Deligniere, A., Gazula, V.-R., Brown, M.R., Langouet, M., Chen, H., Kronengold, J., Abhyankar, A., Cilio, R., Nitschke, P., Kaminska, A., Boddaert, N., Casanova, J.-L., Desguerre, I., Munnich, A., Dulac, O., Kaczmarek, L.K., Colleaux, L., Nabbout, R., 2012. De novo gain-of-function KCNT1 channel mutations cause malignant migrating partial seizures of infancy. *Nat Genet* 44, 1255–1259. <https://doi.org/10.1038/ng.2441>

Barela, A.J., Waddy, S.P., Lickfett, J.G., Hunter, J., Anido, A., Helmers, S.L., Goldin, A.L., Escayg, A., 2006. An epilepsy mutation in the sodium channel SCN1A that decreases channel excitability. *J Neurosci* 26, 2714–2723. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2977-05.2006>

Barkovich, A.J., Guerrini, R., Kuzniecky, R.I., Jackson, G.D., Dobyns, W.B., 2012. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update 2012. *Brain* 135, 1348–1369. <https://doi.org/10.1093/brain/aws019>

Bar-Peled, L., Chantranupong, L., Cherniack, A.D., Chen, W.W., Ottina, K.A., Grabiner, B.C., Spear, E.D., Carter, S.L., Meyerson, M., Sabatini, D.M., 2013. A Tumor suppressor complex with GAP activity for the Rag GTPases that signal amino acid sufficiency to mTORC1. *Science* 340, 1100–1106. <https://doi.org/10.1126/science.1232044>

Bassani, S., Cwetsch, A.W., Gerosa, L., Serratto, G.M., Folci, A., Hall, I.F., Mazzanti, M., Cancedda, L., Passafaro, M., 2018. The female epilepsy protein PCDH19 is a new GABAAR-binding partner that regulates GABA-ergic transmission as well as migration and morphological maturation of hippocampal neurons. *Human Molecular Genetics* 27, 1027–1038. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy019>

Bateup, H.S., Johnson, C.A., Denefrio, C.L., Saulnier, J.L., Kornacker, K., Sabatini, B.L., 2013. Excitatory/inhibitory synaptic imbalance leads to hippocampal hyperexcitability in mouse models of tuberous sclerosis. *Neuron* 78, 510–522. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.03.017>

Baudin, P., Cousyn, L., Navarro, V., 2021. The LGI1 protein: molecular structure, physiological functions and disruption-related seizures. *Cell. Mol. Life Sci.* 79, 16. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04088-y>

Baulac, S., 2016. mTOR signaling pathway genes in focal epilepsies. *Prog Brain Res* 226, 61–79. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2016.04.013>

Baulac, S., Ishida, S., Marsan, E., Miquel, C., Biraben, A., Nguyen, D.K., Nordli, D., Cossette, P., Nguyen, S., Lambrecq, V., Vlaicu, M., Daniau, M., Bielle, F., Andermann, E., Andermann, F., Leguern, E., Chassoux, F., Picard, F., 2015. Familial focal epilepsy with focal cortical dysplasia due to DEPDC5 mutations. *Ann. Neurol.* 77, 675–683. <https://doi.org/10.1002/ana.24368>

Baulac, S., Picard, F., Herman, A., Feingold, J., Genin, E., Hirsch, E., Prud'homme, J.F., Baulac, M., Brice, A., LeGuern, E., 2001. Evidence for digenic inheritance in a family with both febrile convulsions and temporal lobe epilepsy implicating chromosomes 18qter and 1q25-q31. *Ann Neurol* 49, 786–792. <https://doi.org/10.1002/ana.1014>

Baulac, S., Weckhuysen, S., 2016. DEPDC5-Related Epilepsy, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Mirzaa, G.M., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Baumgartner, C., Koren, J.P., Britto-Arias, M., Zoche, L., Pirker, S., 2019. Presurgical epilepsy evaluation and epilepsy surgery. *F1000Res* 8, F1000 Faculty Rev-1818. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17714.1>

Bautista, J.F., Foldvary-Schaefer, N., Bingaman, W.E., Lüders, H.O., 2003. Focal cortical dysplasia and intractable epilepsy in adults: clinical, EEG, imaging, and surgical features. *Epilepsy Res* 55, 131–136. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(03\)00118-9](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(03)00118-9)

Baybis, M., Yu, J., Lee, A., Golden, J.A., Weiner, H., McKhann, G., Aronica, E., Crino, P.B., 2004. mTOR cascade activation distinguishes tubers from focal cortical dysplasia. *Ann Neurol* 56, 478–487. <https://doi.org/10.1002/ana.20211>

Bearden, D., Strong, A., Ehnot, J., DiGiovine, M., Dlugos, D., Goldberg, E.M., 2014. Targeted treatment of migrating partial seizures of infancy with quinidine. *Ann Neurol* 76, 457–461. <https://doi.org/10.1002/ana.24229>

Beaussart, M., Loiseau, P., 1969. Hereditary factors in a random population of 5200 epileptics. *Epilepsia* 10, 55–63. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1969.tb03828.x>

Beghi, E., 2020. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology* 54, 185–191. <https://doi.org/10.1159/000503831>

Beghi, E., Giussani, G., 2018. Aging and the Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology* 51, 216–223. <https://doi.org/10.1159/000493484>

Bell, M.L., Rao, S., So, E.L., Trenerry, M., Kazemi, N., Stead, S.M., Cascino, G., Marsh, R., Meyer, F.B., Watson, R.E., Giannini, C., Worrell, G.A., 2009. Epilepsy surgery outcomes in temporal



lobe epilepsy with a normal MRI. *Epilepsia* 50, 2053–2060. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02079.x>

Bennett, C.A., Petrovski, S., Oliver, K.L., Berkovic, S.F., 2017. ExACTly zero or once: A clinically helpful guide to assessing genetic variants in mild epilepsies. *Neurol Genet* 3, e163. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000163>

Benova, B., Sanders, M.W.C.B., Uhrova-Meszarosova, A., Belohlavkova, A., Hermanovska, B., Novak, V., Stanek, D., Vlckova, M., Zamecnik, J., Aronica, E., Braun, K.P.J., Koeleman, B.P.C., Jansen, F.E., Krsek, P., 2021. GATOR1-related focal cortical dysplasia in epilepsy surgery patients and their families: A possible gradient in severity? *European Journal of Paediatric Neurology* 30, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2020.12.001>

Berg, A.T., Berkovic, S.F., Brodie, M.J., Buchhalter, J., Cross, J.H., van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T.A., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Nordli, D., Plouin, P., Scheffer, I.E., 2010. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 51, 676–685. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>

Berg, A.T., Shinnar, S., Levy, S.R., Testa, F.M., Smith-Rapaport, S., Beckerman, B., 2001. Early development of intractable epilepsy in children: a prospective study. *Neurology* 56, 1445–1452. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.11.1445>

Berg, A.T., Vickrey, B.G., Langfitt, J.T., Sperling, M.R., Walczak, T.S., Shinnar, S., Bazil, C.W., Pacia, S.V., Spencer, S.S., Multicenter Study of Epilepsy Surgery, 2003. The multicenter study of epilepsy surgery: recruitment and selection for surgery. *Epilepsia* 44, 1425–1433. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.24203.x>

Berkovic, Samuel F., Heron, S.E., Giordano, L., Marini, C., Guerrini, R., Kaplan, R.E., Gambardella, A., Steinlein, O.K., Grinton, B.E., Dean, J.T., Bordo, L., Hodgson, B.L., Yamamoto, T., Mulley, J.C., Zara, F., Scheffer, I.E., 2004a. Benign familial neonatal-infantile seizures: characterization of a new sodium channelopathy. *Ann Neurol* 55, 550–557. <https://doi.org/10.1002/ana.20029>

Berkovic, S.F., Howell, R.A., Hay, D.A., Hopper, J.L., 1998. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol* 43, 435–445. <https://doi.org/10.1002/ana.410430405>

Berkovic, S. F., Izzillo, P., McMahon, J.M., Harkin, L.A., McIntosh, A.M., Phillips, H.A., Briellmann, R.S., Wallace, R.H., Mazarib, A., Neufeld, M.Y., Korczy, A.D., Scheffer, I.E., Mulley, J.C., 2004. LGII mutations in temporal lobe epilepsies. *Neurology* 62, 1115–1119. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000118213.94650.81>

Berkovic, S.F., McIntosh, A., Howell, R.A., Mitchell, A., Sheffield, L.J., Hopper, J.L., 1996. Familial temporal lobe epilepsy: a common disorder identified in twins. *Ann Neurol* 40, 227–235. <https://doi.org/10.1002/ana.410400214>

Berkovic, S.F., McIntosh, A.M., Kalnins, R.M., Jackson, G.D., Fabinyi, G.C., Brazenor, G.A., Bladin, P.F., Hopper, J.L., 1995. Preoperative MRI predicts outcome of temporal lobectomy: an actuarial analysis. *Neurology* 45, 1358–1363. <https://doi.org/10.1212/wnl.45.7.1358>

Berkovic, S.F., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Petrou, S., 2006. Human epilepsies: interaction of genetic and acquired factors. *Trends Neurosci* 29, 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.05.009>

Berkovic, Samuel F., Serratosa, J.M., Phillips, H.A., Xiong, L., Andermann, E., Díaz-Otero, F., Gómez-Garre, P., Martín, M., Fernández-Bullido, Y., Andermann, F., Lopes-Cendes, I., Dubeau, F., Desbiens, R., Scheffer, I.E., Wallace, R.H., Mulley, J.C., Pandolfo, M., 2004b. Familial partial epilepsy with variable foci: clinical features and linkage to chromosome 22q12. *Epilepsia* 45, 1054–1060. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.30502.x>

Bertrand, D., Elmslie, F., Hughes, E., Trounce, J., Sander, T., Bertrand, S., Steinlein, O.K., 2005. The CHRN2 mutation I312M is associated with epilepsy and distinct memory deficits. *Neurobiol Dis* 20, 799–804. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.05.013>

Bialer, M., Johannessen, S.I., Koepp, M.J., Levy, R.H., Perucca, E., Tomson, T., White, H.S., 2018. Progress report on new antiepileptic drugs: A summary of the Fourteenth Eilat Conference on New Antiepileptic Drugs and Devices (EILAT XIV). I. Drugs in preclinical and early clinical development. *Epilepsia* 59, 1811–1841. <https://doi.org/10.1111/epi.14557>

Bianchi, A., Viaggi, S., Chiossi, E., LICE Episcreen Group, 2003. Family study of epilepsy in first degree relatives: data from the Italian Episcreen Study. *Seizure* 12, 203–210. [https://doi.org/10.1016/s1059-1311\(02\)00262-5](https://doi.org/10.1016/s1059-1311(02)00262-5)

Bianchi, M.T., Song, L., Zhang, H., Macdonald, R.L., 2002. Two different mechanisms of disinhibition produced by GABAA receptor mutations linked to epilepsy in humans. *J Neurosci* 22, 5321–5327. <https://doi.org/20026554>

Bien, C.G., Schulze-Bonhage, A., Soeder, B.M., Schramm, J., Elger, C.E., Tiemeier, H., 2006. Assessment of the long-term effects of epilepsy surgery with three different reference groups. *Epilepsia* 47, 1865–1869. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00813.x>

Bien, C.G., Szinay, M., Wagner, J., Clusmann, H., Becker, A.J., Urbach, H., 2009. Characteristics and surgical outcomes of patients with refractory magnetic resonance imaging-negative epilepsies. *Arch. Neurol.* 66, 1491–1499. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.283>

Biervert, C., Steinlein, O.K., 1999. Structural and mutational analysis of KCNQ2, the major gene locus for benign familial neonatal convulsions. *Hum Genet* 104, 234–240. <https://doi.org/10.1007/pl00008713>

Bisulli, F., Menghi, V., Vignatelli, L., Licchetta, L., Zenesini, C., Stipa, C., Morigi, F., Gizzi, M., Avoni, P., Provini, F., Mostacci, B., d’Orsi, G., Pippucci, T., Muccioli, L., Tinuper, P., 2018. Epilepsy with auditory features: Long-term outcome and predictors of terminal remission. *Epilepsia* 59, 834–843. <https://doi.org/10.1111/epi.14033>

Bisulli, F., Vignatelli, L., Naldi, I., Licchetta, L., Provini, F., Plazzi, G., Di Vito, L., Ferioli, S., Montagna, P., Tinuper, P., 2010. Increased frequency of arousal parasomnias in families with nocturnal frontal lobe epilepsy: a common mechanism? *Epilepsia* 51, 1852–1860. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02581.x>

Blumcke, I., Aronica, E., Urbach, H., Alexopoulos, A., Gonzalez-Martinez, J.A., 2014. A neuropathology-based approach to epilepsy surgery in brain tumors and proposal for a new terminology use for long-term epilepsy-associated brain tumors. *Acta Neuropathol.* 128, 39–54. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1288-9>

Blumcke, I., Spreafico, R., Haaker, G., Coras, R., Kobow, K., Bien, C.G., Pfäfflin, M., Elger, C., Widman, G., Schramm, J., Becker, A., Braun, K.P., Leijten, F., Baayen, J.C., Aronica, E., Chassoux, F., Hamer, H., Stefan, H., Rössler, K., Thom, M., Walker, M.C., Sisodiya, S.M., Duncan, J.S., McEvoy,

A.W., Pieper, T., Holthausen, H., Kudernatsch, M., Meencke, H.J., Kahane, P., Schulze-Bonhage, A., Zentner, J., Heiland, D.H., Urbach, H., Steinhoff, B.J., Bast, T., Tassi, L., Lo Russo, G., Özkara, C., Oz, B., Krsek, P., Vogelgesang, S., Runge, U., Lerche, H., Weber, Y., Honavar, M., Pimentel, J., Arzimanoglou, A., Ulate-Campos, A., Noachtar, S., Hartl, E., Schijns, O., Guerrini, R., Barba, C., Jacques, T.S., Cross, J.H., Feucht, M., Mühlebner, A., Grunwald, T., Trinkka, E., Winkler, P.A., Gil-Nagel, A., Toledano Delgado, R., Mayer, T., Lutz, M., Zountsas, B., Garganis, K., Rosenow, F., Hermsen, A., von Oertzen, T.J., Diepgen, T.L., Avanzini, G., EEBB Consortium, 2017. Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery. *N Engl J Med* 377, 1648–1656. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal703784>

Boerma, R.S., Braun, K.P., van de Broek, M.P.H., van Berkestijn, F.M.C., Swinkels, M.E., Hagebeuk, E.O., Lindhout, D., van Kempen, M., Boon, M., Nicolai, J., de Kovel, C.G., Brilstra, E.H., Koeleman, B.P.C., 2016. Remarkable Phenytoin Sensitivity in 4 Children with SCN8A-related Epilepsy: A Molecular Neuropharmacological Approach. *Neurotherapeutics* 13, 192–197. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0372-8>

Boillot, M., Baulac, S., 2016. Genetic models of focal epilepsies. *J Neurosci Methods* 260, 132–143. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.06.003>

Borghi, R., Magliocca, V., Trivisano, M., Specchio, N., Tartaglia, M., Bertini, E., Compagnucci, C., 2022. Modeling PCDH19-CE: From 2D Stem Cell Model to 3D Brain Organoids. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 3506. <https://doi.org/10.3390/ijms23073506>

Bouhadoun, S., Poulin, C., Berrahmoune, S., Myers, K.A., 2021. A retrospective analysis of memantine use in a pediatric neurology clinic. *Brain and Development* 43, 997–1003. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2021.05.012>

Bowser, D.N., Wagner, D.A., Czajkowski, C., Cromer, B.A., Parker, M.W., Wallace, R.H., Harkin, L.A., Mulley, J.C., Marini, C., Berkovic, S.F., Williams, D.A., Jones, M.V., Petrou, S., 2002. Altered kinetics and benzodiazepine sensitivity of a GABAA receptor subunit mutation [ $\gamma$ 2(R43Q)] found in human epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 15170–15175. <https://doi.org/10.1073/pnas.212320199>

Braat, S., Kooy, R.F., 2015. The GABAA Receptor as a Therapeutic Target for Neurodevelopmental Disorders. *Neuron* 86, 1119–1130. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.042>

Brackenbury, W.J., Yuan, Y., O'Malley, H.A., Parent, J.M., Isom, L.L., 2013. Abnormal neuronal patterning occurs during early postnatal brain development of *Scn1b*-null mice and precedes hyperexcitability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 1089–1094. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208767110>

Bras, J., Guerreiro, R., Hardy, J., 2012. Use of next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease. *Nat Rev Neurosci* 13, 453–464. <https://doi.org/10.1038/nrn3271>

Brenner, T., Sills, G.J., Hart, Y., Howell, S., Waters, P., Brodie, M.J., Vincent, A., Lang, B., 2013. Prevalence of neurologic autoantibodies in cohorts of patients with new and established epilepsy. *Epilepsia* 54, 1028–1035. <https://doi.org/10.1111/epi.12127>

Briellmann, R.S., Torn-Broers, Y., Jackson, G.D., Berkovic, S.F., 2001. Seizures in family members of patients with hippocampal sclerosis. *Neurology* 57, 1800–1804. <https://doi.org/10.1212/WNL.57.10.1800>

Brodie, M.J., Barry, S.J.E., Bamagous, G.A., Norrie, J.D., Kwan, P., 2012. Patterns of treatment response in newly diagnosed epilepsy. *Neurology* 78, 1548–1554. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182563b19>

Brophy, G.M., Bell, R., Claassen, J., Alldredge, B., Bleck, T.P., Glauser, T., Laroche, S.M., Riviello, J.J., Shutter, L., Sperling, M.R., Treiman, D.M., Vespa, P.M., Neurocritical Care Society Status Epilepticus Guideline Writing Committee, 2012. Guidelines for the evaluation and management of status epilepticus. *Neurocrit Care* 17, 3–23. <https://doi.org/10.1007/s12028-012-9695-z>

Brunklaus, A., Brünger, T., Feng, T., Fons, C., Lehtikainen, A., Panagiotakaki, E., Vintan, M.-A., Symonds, J., Andrew, J., Arzimanoglou, A., Delima, S., Gallois, J., Hanrahan, D., Lesca, G., MacLeod, S., Marjanovic, D., McTague, A., Nuñez-Enamorado, N., Perez-Palma, E., Perry, M.S., Pysden, K., Russ-Hall, S.J., Scheffer, I.E., Sully, K., Syrbe, S., Vaher, U., Velayutham, M., Vogt, J., Weiss, S., Wirrell, E., Zuberi, S.M., Lal, D., Møller, R.S., Mantegazza, M., Cestèle, S., 2022. The gain of function SCN1A disorder spectrum: novel epilepsy phenotypes and therapeutic implications. *Brain* 145, 3816. <https://doi.org/10.1093/brain/awac210>

Brunklaus, A., Du, J., Steckler, F., Ghanty, I.I., Johannesen, K.M., Fenger, C.D., Schorge, S., Baez-Nieto, D., Wang, H.-R., Allen, A., Pan, J.Q., Lerche, H., Heyne, H., Symonds, J.D., Zuberi, S.M., Sanders, S., Sheidley, B.R., Craiu, D., Olson, H.E., Weckhuysen, S., DeJonge, P., Helbig, I., Van Esch, H., Busa, T., Milh, M., Isidor, B., Depienne, C., Poduri, A., Campbell, A.J., Dimidschstein, J., Møller, R.S., Lal, D., 2020. Biological concepts in human sodium channel epilepsies and their relevance in clinical practice. *Epilepsia* 61, 387–399. <https://doi.org/10.1111/epi.16438>

Bureau, M., Cokar, O., Maton, B., Genton, P., Dravet, C., 2002. Sleep-related, low voltage Rolandic and vertex spikes: an EEG marker of benignity in infancy-onset focal epilepsies. *Epileptic Disord* 4, 15–22.

Burneo, J.G., Tellez-Zenteno, J., Wiebe, S., 2005. Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Res* 66, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2005.07.002>

Burton, P.R., Tobin, M.D., Hopper, J.L., 2005. Key concepts in genetic epidemiology. *Lancet* 366, 941–951. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67322-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67322-9)

Byrne, S., Enright, N., Delanty, N., 2021. Precision therapy in the genetic epilepsies of childhood. *Developmental Medicine & Child Neurology* 63, 1276–1282. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14929>

Callenbach, P.M.C., van den Maagdenberg, A.M.J.M., Hottenga, J.J., van den Boogerd, E.H., de Coo, R.F.M., Lindhout, D., Frants, R.R., Sandkuijl, L.A., Brouwer, O.F., 2003. Familial partial epilepsy with variable foci in a Dutch family: clinical characteristics and confirmation of linkage to chromosome 22q. *Epilepsia* 44, 1298–1305. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.62302.x>

Cappelletti, S., Specchio, N., Moavero, R., Terracciano, A., Trivisano, M., Pontrelli, G., Gentile, S., Vigeveno, F., Cusmai, R., 2015. Cognitive development in females with PCDH19 gene-related epilepsy. *Epilepsy Behav* 42, 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.10.019>

Caraballo, R.H., Cersósimo, R.O., Espeche, A., Fejerman, N., 2003. Benign familial and non-familial infantile seizures: a study of 64 patients. *Epileptic Disord* 5, 45–49.

Caraballo, R.H., Sakr, D., Mozzi, M., Guerrero, A., Adi, J.N., Cersósimo, R.O., Fejerman, N., 2004. Symptomatic occipital lobe epilepsy following neonatal hypoglycemia. *Pediatr Neurol* 31, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2003.12.008>

Carvill, G.L., Regan, B.M., Yendle, S.C., O’Roak, B.J., Lozovaya, N., Bruneau, N., Burnashev, N., Khan, A., Cook, J., Geraghty, E., Sadleir, L.G., Turner, S.J., Tsai, M.-H., Webster, R., Ouvrier, R., Damiano, J.A., Berkovic, S.F., Shendure, J., Hildebrand, M.S., Szepetowski, P., Scheffer, I.E., Mefford, H.C., 2013. GRIN2A mutations cause epilepsy-aphasia spectrum disorders. *Nat. Genet.* 45, 1073–1076. <https://doi.org/10.1038/ng.2727>

Cendes, F., Andermann, F., Dubeau, F., Gloor, P., Evans, A., Jones-Gotman, M., Olivier, A., Andermann, E., Robitaille, Y., Lopes-Cendes, I., 1993. Early childhood prolonged febrile convulsions, atrophy and sclerosis of mesial structures, and temporal lobe epilepsy: an MRI volumetric study. *Neurology* 43, 1083–1087. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.6.1083>

Cepeda, C., Hurst, R.S., Flores-Hernández, J., Hernández-Echeagaray, E., Klapstein, G.J., Boylan, M.K., Calvert, C.R., Jocoy, E.L., Nguyen, O.K., André, V.M., Vinters, H.V., Ariano, M.A., Levine, M.S., Mathern, G.W., 2003. Morphological and electrophysiological characterization of abnormal cell types in pediatric cortical dysplasia. *J. Neurosci. Res.* 72, 472–486. <https://doi.org/10.1002/jnr.10604>

Chakravarti, A., 1999. Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet* 21, 56–60. <https://doi.org/10.1038/4482>

Chen, C., Fang, F., Wang, Xu, Lv, J., Wang, Xiaohui, Jin, H., 2022. Phenotypic and Genotypic Characteristics of SCN1A Associated Seizure Diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 15.

Chernova, O.B., Somerville, R.P., Cowell, J.K., 1998. A novel gene, LGI1, from 10q24 is rearranged and downregulated in malignant brain tumors. *Oncogene* 17, 2873–2881. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202481>

Chiu, C., Reid, C.A., Tan, H.O., Davies, P.J., Single, F.N., Koukoulas, I., Berkovic, S.F., Tan, S.-S., Sprengel, R., Jones, M.V., Petrou, S., 2008. Developmental impact of a familial GABAA receptor epilepsy mutation. *Ann Neurol* 64, 284–293. <https://doi.org/10.1002/ana.21440>

Christensen, J., Pedersen, M.G., Pedersen, C.B., Sidenius, P., Olsen, J., Vestergaard, M., 2009. Long-term risk of epilepsy after traumatic brain injury in children and young adults: a population-based cohort study. *Lancet* 373, 1105–1110. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60214-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60214-2)

Christensen, J., Vestergaard, M., Pedersen, M.G., Pedersen, C.B., Olsen, J., Sidenius, P., 2007. Incidence and prevalence of epilepsy in Denmark. *Epilepsy Res* 76, 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2007.06.012>

Claes, L., Audenaert, D., Deprez, L., Van Paesschen, W., Depondt, C., Goossens, D., Del-Favero, J., Van Broeckhoven, C., De Jonghe, P., 2004. Novel locus on chromosome 12q22-q23.3 responsible for familial temporal lobe epilepsy associated with febrile seizures. *J Med Genet* 41, 710–714. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.019257>

Claes, L., Ceulemans, B., Audenaert, D., Smets, K., Löfgren, A., Del-Favero, J., Ala-Mello, S., Basel-Vanagaite, L., Plecko, B., Raskin, S., Thiry, P., Wolf, N.I., Van Broeckhoven, C., De Jonghe, P., 2003. De novo SCN1A mutations are a major cause of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Human Mutation* 21, 615–621. <https://doi.org/10.1002/humu.10217>

Claes, L.R.F., Ceulemans, B., Audenaert, D., Deprez, L., Jansen, A., Hasaerts, D., Weckx, S., Claeys, K.G., Del-Favero, J., Van Broeckhoven, C., De Jonghe, P., 2004. De novo KCNQ2 mutations in patients with benign neonatal seizures. *Neurology* 63, 2155–2158. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000145629.94338.89>

Cloëtta, D., Thomanetz, V., Baranek, C., Lustenberger, R.M., Lin, S., Oliveri, F., Atanasoski, S., Rüegg, M.A., 2013. Inactivation of mTORC1 in the developing brain causes microcephaly and affects gliogenesis. *J Neurosci* 33, 7799–7810. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3294-12.2013>

Colosimo, E., Gambardella, A., Mantegazza, M., Labate, A., Rusconi, R., Schiavon, E., Annesi, F., Cassulini, R.R., Carrideo, S., Chifari, R., Canevini, M.P., Canger, R., Franceschetti, S., Annesi, G., Wanke, E., Quattrone, A., 2007. Electroclinical Features of a Family with Simple Febrile Seizures and Temporal Lobe Epilepsy Associated with SCN1A Loss-of-Function Mutation. *Epilepsia* 48, 1691–1696. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01153.x>

Commission on Classification and Terminology ILAE, 1989. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology ILAE. *Epilepsia* 30, 389–399. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1989.tb05316.x>

Commission on Neuroimaging ILAE, 1997. Recommendations for neuroimaging of patients with epilepsy. Commission on Neuroimaging of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 38, 1255–1256. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01226.x>

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. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001471>

Cooper, S.R., Jontes, J.D., Sotomayor, M., 2016. Structural determinants of adhesion by Protocadherin-19 and implications for its role in epilepsy. *eLife* 5, e18529. <https://doi.org/10.7554/eLife.18529>

Corbett, M.A., Bellows, S.T., Li, M., Carroll, R., Micallef, S., Carvill, G.L., Myers, C.T., Howell, K.B., Maljevic, S., Lerche, H., Gazina, E.V., Mefford, H.C., Bahlo, M., Berkovic, S.F., Petrou, S., Scheffer, I.E., Gecz, J., 2016. Dominant KCNA2 mutation causes episodic ataxia and pharmacoresponsive epilepsy. *Neurology* 87, 1975–1984. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003309>

Corey, L.A., Pellock, J.M., Kjeldsen, M.J., Nakken, K.O., 2011. Importance of genetic factors in the occurrence of epilepsy syndrome type: a twin study. *Epilepsy Res* 97, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2011.07.018>

Cossette, P., Loukas, A., Lafrenière, R.G., Rochefort, D., Harvey-Girard, E., Ragsdale, D.S., Dunn, R.J., Rouleau, G.A., 2003. Functional characterization of the D188V mutation in neuronal voltage-gated sodium channel causing generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS). *Epilepsy Res* 53, 107–117. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(02\)00259-0](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(02)00259-0)

Crino, P.B., 2016. The mTOR signalling cascade: paving new roads to cure neurological disease. *Nat Rev Neurol* 12, 379–392. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.81>

Crino, P.B., 2011. mTOR: A pathogenic signaling pathway in developmental brain malformations. *Trends Mol Med* 17, 734–742. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.07.008>

Crompton, D.E., Scheffer, I.E., Taylor, I., Cook, M.J., McKelvie, P.A., Vears, D.F., Lawrence, K.M., McMahon, J.M., Grinton, B.E., McIntosh, A.M., Berkovic, S.F., 2010. Familial mesial temporal lobe epilepsy: a benign epilepsy syndrome showing complex inheritance. *Brain* 133, 3221–3231. <https://doi.org/10.1093/brain/awq251>

- Curatolo, P., 2015. Mechanistic target of rapamycin (mTOR) in tuberous sclerosis complex-associated epilepsy. *Pediatr Neurol* 52, 281–289. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2014.10.028>
- Cvetkovska, E., Kuzmanovski, I., Babunovska, M., Boshkovski, B., Cangovska, T.C., Trencavska, G.K., 2018. Phenotypic spectrum in families with mesial temporal lobe epilepsy probands. *Seizure* 58, 13–16. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2018.03.019>
- Dash, G.K., Rathore, C., Jeyaraj, M.K., Wattamwar, P., Sarma, S.P., Radhakrishnan, K., 2018. Predictors of seizure outcome following resective surgery for drug-resistant epilepsy associated with focal gliosis. *J Neurosurg* 1–9. <https://doi.org/10.3171/2018.3.JNS172949>
- Dawson, R.E., Nieto Guil, A.F., Robertson, L.J., Piltz, S.G., Hughes, J.N., Thomas, P.Q., 2020. Functional screening of GATOR1 complex variants reveals a role for mTORC1 deregulation in FCD and focal epilepsy. *Neurobiol Dis* 134, 104640. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104640>
- Dazzo, E., Fanciulli, M., Serioli, E., Minervini, G., Pulitano, P., Binelli, S., Di Bonaventura, C., Luisi, C., Pasini, E., Striano, S., Striano, P., Coppola, G., Chiavegato, A., Radovic, S., Spadotto, A., Uzzau, S., La Neve, A., Giallonardo, A.T., Mecarelli, O., Tosatto, S.C.E., Ottman, R., Michelucci, R., Nobile, C., 2015. Heterozygous reelin mutations cause autosomal-dominant lateral temporal epilepsy. *Am. J. Hum. Genet.* 96, 992–1000. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.020>
- Dazzo, E., Rehberg, K., Michelucci, R., Passarelli, D., Boniver, C., Vianello Dri, V., Striano, P., Striano, S., Pasterkamp, R.J., Nobile, C., 2018. Mutations in MICAL-1 cause autosomal-dominant lateral temporal epilepsy. *Ann Neurol* 83, 483–493. <https://doi.org/10.1002/ana.25167>
- De Fusco, M., Becchetti, A., Patrignani, A., Annesi, G., Gambardella, A., Quattrone, A., Ballabio, A., Wanke, E., Casari, G., 2000. The nicotinic receptor beta 2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 26, 275–276. <https://doi.org/10.1038/81566>
- de Koning, A.P.J., Gu, W., Castoe, T.A., Batzer, M.A., Pollock, D.D., 2011. Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome. *PLoS Genet* 7, e1002384. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002384>
- de Kovel, C.G.F., Trucks, H., Helbig, I., Mefford, H.C., Baker, C., Leu, C., Kluck, C., Muhle, H., von Spiczak, S., Ostertag, P., Obermeier, T., Kleefuss-Lie, A.A., Hallmann, K., Steffens, M., Gaus, V., Klein, K.M., Hamer, H.M., Rosenow, F., Brilstra, E.H., Trenité, D.K.-N., Swinkels, M.E.M., Weber, Y.G., Unterberger, I., Zimprich, F., Urak, L., Feucht, M., Fuchs, K., Møller, R.S., Hjalgrim, H., De Jonghe, P., Suls, A., Rückert, I.-M., Wichmann, H.-E., Franke, A., Schreiber, S., Nürnberg, P., Elger, C.E., Lerche, H., Stephani, U., Koeleman, B.P.C., Lindhout, D., Eichler, E.E., Sander, T., 2010. Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies. *Brain* 133, 23–32. <https://doi.org/10.1093/brain/awp262>
- de la Court, A., Breteler, M.M., Meinardi, H., Hauser, W.A., Hofman, A., 1996. Prevalence of epilepsy in the elderly: the Rotterdam Study. *Epilepsia* 37, 141–147. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1996.tb00005.x>
- de Lange, I.M., Koudijs, M.J., van 't Slot, R., Gunning, B., Sonsma, A.C.M., van Gemert, L.J.J.M., Mulder, F., Carbo, E.C., van Kempen, M.J.A., Verbeek, N.E., Nijman, I.J., Ernst, R.F., Savelberg, S.M.C., Knoers, N.V.A.M., Brilstra, E.H., Koeleman, B.P.C., 2018. Mosaicism of de novo pathogenic SCN1A variants in epilepsy is a frequent phenomenon that correlates with variable phenotypes. *Epilepsia* 59, 690–703. <https://doi.org/10.1111/epi.14021>

de Tisi, J., Bell, G.S., Peacock, J.L., McEvoy, A.W., Harkness, W.F.J., Sander, J.W., Duncan, J.S., 2011. The long-term outcome of adult epilepsy surgery, patterns of seizure remission, and relapse: a cohort study. *Lancet* 378, 1388–1395. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60890-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60890-8)

Deb, B.K., Bateup, H.S., 2021. Modeling Somatic Mutations Associated With Neurodevelopmental Disorders in Human Brain Organoids. *Front Mol Neurosci* 14, 787243. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.787243>

Dedek, K., Kunath, B., Kananura, C., Reuner, U., Jentsch, T.J., Steinlein, O.K., 2001. Myokymia and neonatal epilepsy caused by a mutation in the voltage sensor of the KCNQ2 K<sup>+</sup> channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 12272–12277. <https://doi.org/10.1073/pnas.211431298>

Deleo, F., Garbelli, R., Milesi, G., Gozzo, F., Bramerio, M., Villani, F., Cardinale, F., Tringali, G., Spreafico, R., Tassi, L., 2016. Short- and long-term surgical outcomes of temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis: Relationships with neuropathology. *Epilepsia* 57, 306–315. <https://doi.org/10.1111/epi.13277>

Delmas, P., Brown, D.A., 2005. Pathways modulating neural KCNQ/M (Kv7) potassium channels. *Nat Rev Neurosci* 6, 850–862. <https://doi.org/10.1038/nrn1785>

Depienne, Christel, Bouteiller, D., Keren, B., Cheuret, E., Poirier, K., Trouillard, O., Benyahia, B., Quelin, C., Carpentier, W., Julia, S., Afenjar, A., Gautier, A., Rivier, F., Meyer, S., Berquin, P., Hélias, M., Py, I., Rivera, S., Bahi-Buisson, N., Gourfinkel-An, I., Cazeneuve, C., Ruberg, M., Brice, A., Nabbout, R., Leguern, E., 2009. Sporadic infantile epileptic encephalopathy caused by mutations in PCDH19 resembles Dravet syndrome but mainly affects females. *PLoS Genet* 5, e1000381. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000381>

Depienne, C., Leguern, E., 2012. PCDH19-related infantile epileptic encephalopathy: an unusual X-linked inheritance disorder. *Human Mutation* 33, 627. <https://doi.org/10.1002/humu.22029>

Depienne, C., Trouillard, O., Saint-Martin, C., Gourfinkel-An, I., Bouteiller, D., Carpentier, W., Keren, B., Abert, B., Gautier, A., Baulac, S., Arzimanoglou, A., Cazeneuve, C., Nabbout, R., LeGuern, E., 2009. Spectrum of SCN1A gene mutations associated with Dravet syndrome: analysis of 333 patients. *J Med Genet* 46, 183–191. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.062323>

Depondt, C., Van Paesschen, W., Matthijs, G., Legius, E., Martens, K., Demaerel, P., Wilms, G., 2002. Familial temporal lobe epilepsy with febrile seizures. *Neurology* 58, 1429–1433. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.9.1429>

DePristo, M.A., Banks, E., Poplin, R., Garimella, K.V., Maguire, J.R., Hartl, C., Philippakis, A.A., del Angel, G., Rivas, M.A., Hanna, M., McKenna, A., Fennell, T.J., Kernytsky, A.M., Sivachenko, A.Y., Cibulskis, K., Gabriel, S.B., Altshuler, D., Daly, M.J., 2011. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet* 43, 491–498. <https://doi.org/10.1038/ng.806>

Desmet, F.-O., Hamroun, D., Lalande, M., Collod-Bérout, G., Claustres, M., Bérout, C., 2009. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res* 37, e67. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp215>

Devaux, J., Abidi, A., Roubertie, A., Molinari, F., Becq, H., Lacoste, C., Villard, L., Milh, M., Aniksztejn, L., 2016. A Kv7.2 mutation associated with early onset epileptic encephalopathy with suppression-burst enhances Kv7/M channel activity. *Epilepsia* 57, e87-93. <https://doi.org/10.1111/epi.13366>



Devinsky, O., Asato, M., Camfield, P., Geller, E., Kanner, A.M., Keller, S., Kerr, M., Kossoff, E.H., Lau, H., Kothare, S., Singh, B.K., Wirrell, E., 2015. Delivery of epilepsy care to adults with intellectual and developmental disabilities. *Neurology* 85, 1512–1521. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002060>

Di Bonaventura, C., Carni, M., Diani, E., Fattouch, J., Vaudano, E.A., Egeo, G., Pantano, P., Maraviglia, B., Bozzao, L., Manfredi, M., Prencipe, M., Giallonardo, T.A., Nobile, C., 2009. Drug resistant ADLTE and recurrent partial status epilepticus with dysphasic features in a family with a novel LGI1 mutation: electroclinical, genetic, and EEG/fMRI findings. *Epilepsia* 50, 2481–2486. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02181.x>

Di Bonaventura, C., Operto, F.F., Busolin, G., Egeo, G., D’Aniello, A., Vitello, L., Smaniotto, G., Furlan, S., Diani, E., Michelucci, R., Giallonardo, A.T., Coppola, G., Nobile, C., 2011. Low penetrance and effect on protein secretion of LGI1 mutations causing autosomal dominant lateral temporal epilepsy. *Epilepsia* 52, 1258–1264. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03071.x>

Di Resta, C., Ambrosi, P., Curia, G., Becchetti, A., 2010. Effect of carbamazepine and oxcarbazepine on wild-type and mutant neuronal nicotinic acetylcholine receptors linked to nocturnal frontal lobe epilepsy. *Eur J Pharmacol* 643, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.05.063>

Dibbens, L.M., de Vries, B., Donatello, S., Heron, S.E., Hodgson, B.L., Chintawar, S., Crompton, D.E., Hughes, J.N., Bellows, S.T., Klein, K.M., Callenbach, P.M.C., Corbett, M.A., Gardner, A.E., Kivity, S., Iona, X., Regan, B.M., Weller, C.M., Crimmins, D., O’Brien, T.J., Guerrero-López, R., Mulley, J.C., Dubeau, F., Licchetta, L., Bisulli, F., Cossette, P., Thomas, P.Q., Gecz, J., Serratosa, J., Brouwer, O.F., Andermann, F., Andermann, E., van den Maagdenberg, A.M.J.M., Pandolfo, M., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., 2013. Mutations in DEPDC5 cause familial focal epilepsy with variable foci. *Nat. Genet.* 45, 546–551. <https://doi.org/10.1038/ng.2599>

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. *Hum Mol Genet* 13, 1315–1319. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh146>

Dibbens, L.M., Tarpey, P.S., Hynes, K., Bayly, M.A., Scheffer, I.E., Smith, R., Bomar, J., Sutton, E., Vandeleur, L., Shoubridge, C., Edkins, S., Turner, S.J., Stevens, C., O’Meara, S., Tofts, C., Barthorpe, S., Buck, G., Cole, J., Halliday, K., Jones, D., Lee, R., Madison, M., Mironenko, T., Varian, J., West, S., Widaa, S., Wray, P., Teague, J., Dicks, E., Butler, A., Menzies, A., Jenkinson, A., Shepherd, R., Gusella, J.F., Afawi, Z., Mazarib, A., Neufeld, M.Y., Kivity, S., Lev, D., Lerman-Sagie, T., Korczyn, A.D., Derry, C.P., Sutherland, G.R., Friend, K., Shaw, M., Corbett, M., Kim, H.-G., Geschwind, D.H., Thomas, P., Haan, E., Ryan, S., McKee, S., Berkovic, S.F., Futreal, P.A., Stratton, M.R., Mulley, J.C., Géczy, J., 2008. X-linked protocadherin 19 mutations cause female-limited epilepsy and cognitive impairment. *Nat Genet* 40, 776–781. <https://doi.org/10.1038/ng.149>

Dichgans, M., Freilinger, T., Eckstein, G., Babini, E., Lorenz-Depiereux, B., Biskup, S., Ferrari, M.D., Herzog, J., van den Maagdenberg, A.M.J.M., Pusch, M., Strom, T.M., 2005. Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 366, 371–377. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66786-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66786-4)

Ding, J., Li, X., Tian, H., Wang, L., Guo, B., Wang, Y., Li, W., Wang, F., Sun, T., 2021. SCN1A Mutation-Beyond Dravet Syndrome: A Systematic Review and Narrative Synthesis. *Front Neurol* 12, 743726. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.743726>

Dobesberger, J., Walser, G., Unterberger, I., Seppi, K., Kuchukhidze, G., Larch, J., Bauer, G., Bodner, T., Falkenstetter, T., Ortler, M., Luef, G., Trinkka, E., 2011. Video-EEG monitoring: safety and adverse events in 507 consecutive patients. *Epilepsia* 52, 443–452. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02782.x>

Dokudovskaya, S., Rout, M.P., 2015. SEA you later alli-GATOR – a dynamic regulator of the TORC1 stress response pathway. *Journal of Cell Science* 128, 2219–2228. <https://doi.org/10.1242/jcs.168922>

Donnan, A.M., Schneider, A.L., Russ-Hall, S., Churilov, L., Scheffer, I.E., 2023. Rates of Status Epilepticus and Sudden Unexplained Death in Epilepsy in People With Genetic Developmental and Epileptic Encephalopathies. *Neurology* 100, e1712–e1722. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000207080>

Dorschner, M.O., Amendola, L.M., Turner, E.H., Robertson, P.D., Shirts, B.H., Gallego, C.J., Bennett, R.L., Jones, K.L., Tokita, M.J., Bennett, J.T., Kim, J.H., Rosenthal, E.A., Kim, D.S., National Heart, Lung, and Blood Institute Grand Opportunity Exome Sequencing Project, Tabor, H.K., Bamshad, M.J., Motulsky, A.G., Scott, C.R., Pritchard, C.C., Walsh, T., Burke, W., Raskind, W.H., Byers, P., Hisama, F.M., Nickerson, D.A., Jarvik, G.P., 2013. Actionable, pathogenic incidental findings in 1,000 participants' exomes. *Am J Hum Genet* 93, 631–640. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.08.006>

Dreier, J.W., Ellis, C.A., Berkovic, S.F., Cotsapas, C., Ottman, R., Christensen, J., 2021. Epilepsy risk in offspring of affected parents; a cohort study of the “maternal effect” in epilepsy. *Ann Clin Transl Neurol* 8, 153–162. <https://doi.org/10.1002/acn3.51258>

Dubey, D., Alqallaf, A., Hays, R., Freeman, M., Chen, K., Ding, K., Agostini, M., Vernino, S., 2017. Neurological Autoantibody Prevalence in Epilepsy of Unknown Etiology. *JAMA Neurol* 74, 397–402. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.5429>

Dutchak, P.A., Laxman, S., Estill, S.J., Wang, C., Wang, Yun, Wang, Yiguang, Bulut, G.B., Gao, J., Huang, L.J., Tu, B.P., 2015. Regulation of Hematopoiesis and Methionine Homeostasis by mTORC1 Inhibitor NPRL2. *Cell Reports* 12, 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.042>

Elger, C.E., von Oertzen, J., 2004. MRI in presurgical evaluation of epilepsy, in: *The Treatment of Epilepsy*. Blackwell Publishing, Malden, pp. 640–651.

Ellis, C.A., Berkovic, S.F., Epstein, M.P., Ottman, R., Epi4K Consortium, 2020a. The “maternal effect” on epilepsy risk: Analysis of familial epilepsies and reassessment of prior evidence. *Ann Neurol* 87, 132–138. <https://doi.org/10.1002/ana.25625>

Ellis, C.A., Ottman, R., Epstein, M.P., Berkovic, S.F., Epi4K Consortium, 2020b. Generalized, focal, and combined epilepsies in families: New evidence for distinct genetic factors. *Epilepsia* 61, 2667–2674. <https://doi.org/10.1111/epi.16732>

Ellis, C.A., Petrovski, S., Berkovic, S.F., 2020c. Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *Lancet Neurol* 19, 93–100. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30269-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30269-8)

Endele, S., Rosenberger, G., Geider, K., Popp, B., Tamer, C., Stefanova, I., Milh, M., Kortüm, F., Fritsch, A., Pientka, F.K., Hellenbroich, Y., Kalscheuer, V.M., Kohlhase, J., Moog, U., Rappold, G., Rauch, A., Ropers, H.-H., von Spiczak, S., Tönnies, H., Villeneuve, N., Villard, L., Zabel, B., Zenker, M., Laube, B., Reis, A., Wieczorek, D., Van Maldergem, L., Kutsche, K., 2010. Mutations in GRIN2A and GRIN2B encoding regulatory subunits of NMDA receptors cause variable neurodevelopmental phenotypes. *Nat Genet* 42, 1021–1026. <https://doi.org/10.1038/ng.677>

- Engel, J., 2018. The current place of epilepsy surgery. *Curr. Opin. Neurol.* 31, 192–197. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000528>
- Engel, J., 2006. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia* 47, 1558–1568. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00215.x>
- Engel, J., 2001. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia* 42, 796–803. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.10401.x>
- EPGP Collaborative, Abou-Khalil, B., Alldredge, B., Bautista, J., Berkovic, S., Bluvstein, J., Boro, A., Cascino, G., Consalvo, D., Cristofaro, S., Crumrine, P., Devinsky, O., Dlugos, D., Epstein, M., Fahlstrom, R., Fiol, M., Fountain, N., Fox, K., French, J., Freyer Karn, C., Friedman, D., Geller, E., Glauser, T., Glynn, S., Haas, K., Haut, S., Hayward, J., Helmers, S., Joshi, S., Kanner, A., Kirsch, H., Knowlton, R., Kossoff, E., Kuperman, R., Kuzniecky, R., Lowenstein, D., McGuire, S., Motika, P., Nesbitt, G., Novotny, E., Ottman, R., Paolicchi, J., Parent, J., Park, K., Poduri, A., Risch, N., Sadleir, L., Scheffer, I., Shellhaas, R., Sherr, E., Shih, J.J., Shinnar, S., Singh, R., Sirven, J., Smith, M., Sullivan, J., Thio, L.L., Venkat, A., Vining, E., von Allmen, G., Weisenberg, J., Widdess-Walsh, P., Winawer, M., 2013. The epilepsy phenome/genome project. *Clin Trials* 10, 568–586. <https://doi.org/10.1177/1740774513484392>
- Epi4K Consortium, 2012. Epi4K: gene discovery in 4,000 genomes. *Epilepsia* 53, 1457–1467. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03511.x>
- Epi4K consortium, EPGP, 2017. Ultra-rare genetic variation in common epilepsies: a case-control sequencing study. *Lancet Neurol* 16, 135–143. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30359-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30359-3)
- Epi25 Collaborative, 2021. Sub-genic intolerance, ClinVar, and the epilepsies: A whole-exome sequencing study of 29,165 individuals. *Am J Hum Genet* 108, 965–982. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.04.009>
- Epi25 Collaborative, 2019. Ultra-Rare Genetic Variation in the Epilepsies: A Whole-Exome Sequencing Study of 17,606 Individuals. *Am J Hum Genet* 105, 267–282. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.05.020>
- EpiPM Consortium, 2015. A roadmap for precision medicine in the epilepsies. *Lancet Neurol* 14, 1219–1228. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00199-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00199-4)
- Escayg, A., Goldin, A.L., 2010. Sodium channel SCN1A and epilepsy: mutations and mechanisms. *Epilepsia* 51, 1650–1658. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02640.x>
- Escayg, A., MacDonald, B.T., Meisler, M.H., Baulac, S., Huberfeld, G., An-Gourfinkel, I., Brice, A., LeGuern, E., Moulard, B., Chaigne, D., Buresi, C., Malafosse, A., 2000. Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat Genet* 24, 343–345. <https://doi.org/10.1038/74159>
- Eugène, E., Depienne, C., Baulac, S., Baulac, M., Fritschy, J.M., Le Guern, E., Miles, R., Poncer, J.C., 2007. GABA(A) receptor gamma 2 subunit mutations linked to human epileptic syndromes differentially affect phasic and tonic inhibition. *J Neurosci* 27, 14108–14116. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2618-07.2007>
- Falco-Walter, J.J., Scheffer, I.E., Fisher, R.S., 2018. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res* 139, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.11.015>

Fedurco, M., Romieu, A., Williams, S., Lawrence, I., Turcatti, G., 2006. BTA, a novel reagent for DNA attachment on glass and efficient generation of solid-phase amplified DNA colonies. *Nucleic Acids Res* 34, e22. <https://doi.org/10.1093/nar/gnj023>

Ferraro, L., Pollard, J.R., Helbig, I., 2016. Attitudes Toward Epilepsy Genetics Testing Among Adult and Pediatric Epileptologists-Results of a Q-PULSE Survey. *Epilepsy Curr* 16, 46–47. <https://doi.org/10.5698/1535-7597-16.1.46>

Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J.H., Elger, C.E., Engel, J., 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, 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>

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, 522–530. <https://doi.org/10.1111/epi.13670>

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

Flesler, S., Sakr, D., Cersósimo, R., Caraballo, R., 2010. Benign infantile focal epilepsy with midline spikes and waves during sleep: a new epileptic syndrome or a variant of benign focal epilepsy? *Epileptic Disord* 12, 205–211. <https://doi.org/10.1684/epd.2010.0320>

Fonck, C., Nashmi, R., Deshpande, P., Damaj, M.I., Marks, M.J., Riedel, A., Schwarz, J., Collins, A.C., Labarca, C., Lester, H.A., 2003. Increased sensitivity to agonist-induced seizures, straub tail, and hippocampal theta rhythm in knock-in mice carrying hypersensitive alpha 4 nicotinic receptors. *J Neurosci* 23, 2582–2590.

Forsgren, L., Beghi, E., Oun, A., Sillanpää, M., 2005. The epidemiology of epilepsy in Europe - a systematic review. *Eur J Neurol* 12, 245–253. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2004.00992.x>

Forsgren, L., Bucht, G., Eriksson, S., Bergmark, L., 1996. Incidence and clinical characterization of unprovoked seizures in adults: a prospective population-based study. *Epilepsia* 37, 224–229. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1996.tb00017.x>

Forsgren, L., Sillanpää, M., 2012. Natural course of epilepsies. *Handb Clin Neurol* 108, 643–661. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52899-5.00020-4>

Frankish, A., Diekhans, M., Ferreira, A.-M., Johnson, R., Jungreis, I., Loveland, J., Mudge, J.M., Sisu, C., Wright, J., Armstrong, J., Barnes, I., Berry, A., Bignell, A., Carbonell Sala, S., Chrast, J., Cunningham, F., Di Domenico, T., Donaldson, S., Fiddes, I.T., García Girón, C., Gonzalez, J.M., Grego, T., Hardy, M., Hourlier, T., Hunt, T., Izuogu, O.G., Lagarde, J., Martin, F.J., Martínez, L., Mohanan, S., Muir, P., Navarro, F.C.P., Parker, A., Pei, B., Pozo, F., Ruffier, M., Schmitt, B.M., Stapleton, E., Suner, M.-M., Sycheva, I., Uszczyńska-Ratajczak, B., Xu, J., Yates, A., Zerbino, D., Zhang, Y., Aken, B., Choudhary, J.S., Gerstein, M., Guigó, R., Hubbard, T.J.P., Kellis, M., Paten, B., Reymond, A., Tress, M.L., Flicek, P., 2019. GENCODE reference annotation for the human and mouse genomes. *Nucleic Acids Res* 47, D766–D773. <https://doi.org/10.1093/nar/gky955>

French, J.A., Lawson, J.A., Yapici, Z., Ikeda, H., Polster, T., Nabhout, R., Curatolo, P., de Vries, P.J., Dlugos, D.J., Berkowitz, N., Voi, M., Peyrard, S., Pelov, D., Franz, D.N., 2016. Adjunctive everolimus therapy for treatment-resistant focal-onset seizures associated with tuberous sclerosis (EXIST-3): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *The Lancet* 388, 2153–2163. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31419-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31419-2)

French, J.A., Williamson, P.D., Thadani, V.M., Darcey, T.M., Mattson, R.H., Spencer, S.S., Spencer, D.D., 1993. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann. Neurol.* 34, 774–780. <https://doi.org/10.1002/ana.410340604>

Fukata, Y., Adesnik, H., Iwanaga, T., Bredt, D.S., Nicoll, R.A., Fukata, M., 2006. Epilepsy-related ligand/receptor complex LGI1 and ADAM22 regulate synaptic transmission. *Science* 313, 1792–1795. <https://doi.org/10.1126/science.1129947>

Furia, A., Licchetta, L., Muccioli, L., Ferri, L., Mostacci, B., Mazzoni, S., Menghi, V., Minardi, R., Tinuper, P., Bisulli, F., 2022. Epilepsy With Auditory Features: From Etiology to Treatment. *Front Neurol* 12, 807939. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.807939>

Gaitatzis, A., Johnson, A.L., Chadwick, D.W., Shorvon, S.D., Sander, J.W., 2004. Life expectancy in people with newly diagnosed epilepsy. *Brain* 127, 2427–2432. <https://doi.org/10.1093/brain/awh267>

Gale, J.R., Kosobucki, G.J., Hartnett-Scott, K.A., Aizenman, E., 2021. Imprecision in Precision Medicine: Differential Response of a Disease-Linked GluN2A Mutant to NMDA Channel Blockers. *Frontiers in Pharmacology* 12.

Gambardella, A., Labate, A., Giallonardo, A., Aguglia, U., 2009. Familial mesial temporal lobe epilepsies: clinical and genetic features. *Epilepsia* 50 Suppl 5, 55–57. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02123.x>

Garami, A., Zwartkruis, F.J.T., Nobukuni, T., Joaquin, M., Roccio, M., Stocker, H., Kozma, S.C., Hafen, E., Bos, J.L., Thomas, G., 2003. Insulin activation of Rheb, a mediator of mTOR/S6K/4E-BP signaling, is inhibited by TSC1 and 2. *Mol Cell* 11, 1457–1466. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00220-x](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00220-x)

Gasparini, S., Ferlazzo, E., Beghi, E., Tripepi, G., Labate, A., Mumoli, L., Leonardi, C.G., Cianci, V., Latella, M.A., Gambardella, A., Aguglia, U., 2013. Family history and frontal lobe seizures predict long-term remission in newly diagnosed cryptogenic focal epilepsy. *Epilepsy Res* 107, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2013.07.004>

Gastaut, H., 1970. Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 11, 102–113. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1970.tb03871.x>

GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group, 2017. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Neurol* 16, 877–897. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30299-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30299-5)

GBD 2016 Epilepsy Collaborators, 2019. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 18, 357–375. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30454-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30454-X)

Gecz, J., Thomas, P.Q., 2020. Disentangling the paradox of the PCDH19 clustering epilepsy, a disorder of cellular mosaics. *Current Opinion in Genetics & Development, Molecular and Genetic Bases of Disease* 65, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2020.06.012>

Genç, F., Kara, M., Ünal, Y., Uygur Küçükseymen, E., Biçer Gömceli, Y., Kaynar, T., Tosun, K., Kutlu, G., 2019. Methylation of cation-chloride cotransporters NKCC1 and KCC2 in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Neurol Sci* 40, 1007–1013. <https://doi.org/10.1007/s10072-019-03743-4>

Gerasimenko, A., Baldassari, S., Baulac, S., 2023. mTOR pathway: Insights into an established pathway for brain mosaicism in epilepsy. *Neurobiol Dis* 182, 106144. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106144>

Gerosa, L., Francolini, M., Bassani, S., Passafaro, M., 2019. The Role of Protocadherin 19 (PCDH19) in Neurodevelopment and in the Pathophysiology of Early Infantile Epileptic Encephalopathy-9 (EIEE9). *Developmental Neurobiology* 79, 75–84. <https://doi.org/10.1002/dneu.22654>

Gertler, T., Bearden, D., Bhattacharjee, A., Carvill, G., 1993. KCNT1-Related Epilepsy, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Mirzaa, G.M., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Gheldof, N., Witwicki, R.M., Migliavacca, E., Leleu, M., Didelot, G., Harewood, L., Rougemont, J., Reymond, A., 2013. Structural variation-associated expression changes are paralleled by chromatin architecture modifications. *PLoS One* 8, e79973. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079973>

Gibbs, S.A., Proserpio, P., Francione, S., Mai, R., Cardinale, F., Sartori, I., Castana, L., Plazzi, G., Tinuper, P., Cossu, M., Russo, G.L., Tassi, L., Nobili, L., 2019. Clinical features of sleep-related hypermotor epilepsy in relation to the seizure-onset zone: A review of 135 surgically treated cases. *Epilepsia* 60, 707–717. <https://doi.org/10.1111/epi.14690>

Goyal, A., Fernandes-Torres, J., Flemming, K.D., Williams, L.N., Daniels, D.J., 2023. Clinical presentation, natural history, and outcomes for infantile intracranial cavernous malformations: case series and systematic review of the literature. *Childs Nerv Syst* 39, 1545–1554. <https://doi.org/10.1007/s00381-023-05903-6>

Graus, F., Titulaer, M.J., Balu, R., Benseler, S., Bien, C.G., Cellucci, T., Cortese, I., Dale, R.C., Gelfand, J.M., Geschwind, M., Glaser, C.A., Honnorat, J., Höftberger, R., Iizuka, T., Irani, S.R., Lancaster, E., Leypoldt, F., Prüss, H., Rae-Grant, A., Reindl, M., Rosenfeld, M.R., Rostásy, K., Saiz, A., Venkatesan, A., Vincent, A., Wandinger, K.-P., Waters, P., Dalmau, J., 2016. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 15, 391–404. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00401-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00401-9)

Grinton, B.E., Heron, S.E., Pelekanos, J.T., Zuberi, S.M., Kivity, S., Afawi, Z., Williams, T.C., Casalaz, D.M., Yendle, S., Linder, I., Lev, D., Lerman-Sagie, T., Malone, S., Bassan, H., Goldberg-Stern, H., Stanley, T., Hayman, M., Calvert, S., Korczyn, A.D., Shevell, M., Scheffer, I.E., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., 2015. Familial neonatal seizures in 36 families: Clinical and genetic features correlate with outcome. *Epilepsia* 56, 1071–1080. <https://doi.org/10.1111/epi.13020>

Grone, B.P., Baraban, S.C., 2015. Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. *Nat Neurosci* 18, 339–343. <https://doi.org/10.1038/nn.3934>

Gu, W., Wevers, A., Schröder, H., Grzeschik, K.H., Derst, C., Brodtkorb, E., de Vos, R., Steinlein, O.K., 2002. The LGI1 gene involved in lateral temporal lobe epilepsy belongs to a new

subfamily of leucine-rich repeat proteins. *FEBS Lett* 519, 71–76. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)02713-8](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)02713-8)

Guerrini, R., Marini, C., Mantegazza, M., 2014. Genetic epilepsy syndromes without structural brain abnormalities: clinical features and experimental models. *Neurotherapeutics* 11, 269–285. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0267-0>

Guerrini, R., Parrini, E., Esposito, A., Fassio, A., Conti, V., 2020. Lesional and non-lesional epilepsies: A blurring genetic boundary. *Eur J Paediatr Neurol* 24, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.013>

Guipponi, M., Chentouf, A., Webling, K.E.B., Freimann, K., Crespel, A., Nobile, C., Lemke, J.R., Hansen, J., Dorn, T., Lesca, G., Ryvlin, P., Hirsch, E., Rudolf, G., Rosenberg, D.S., Weber, Y., Becker, F., Helbig, I., Muhle, H., Salzmann, A., Chaouch, M., Oubaiche, M.L., Ziglio, S., Gehrig, C., Santoni, F., Pizzato, M., Langel, Ü., Antonarakis, S.E., 2015. Galanin pathogenic mutations in temporal lobe epilepsy. *Human Molecular Genetics* 24, 3082–3091. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv060>

Gungor, S., Yalnizoglu, D., Turanli, G., Saatci, I., Bakar, E., Topçu, M., 2007. Malformations of cortical development: Clinical spectrum in a series of 101 patients and review of the literature (Part I). *The Turkish journal of pediatrics* 49, 120–30.

Gupta, S., Ryvlin, P., Faught, E., Tsong, W., Kwan, P., 2017. Understanding the burden of focal epilepsy as a function of seizure frequency in the United States, Europe, and Brazil. *Epilepsia Open* 2, 199–213. <https://doi.org/10.1002/epi4.12050>

Gurnett, C.A., Dobbs, M.B., Keppel, C.R., Pincus, E.R., Jansen, L.A., Bowcock, A.M., 2007. Additional evidence of a locus for complex febrile and afebrile seizures on chromosome 12q22-23.3. *Neurogenetics* 8, 61–63. <https://doi.org/10.1007/s10048-006-0063-z>

Gutman, G.A., Chandy, K.G., Grissmer, S., Lazdunski, M., McKinnon, D., Pardo, L.A., Robertson, G.A., Rudy, B., Sanguinetti, M.C., Stühmer, W., Wang, X., 2005. International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacol Rev* 57, 473–508. <https://doi.org/10.1124/pr.57.4.10>

Hainc, N., McAndrews, M.P., Valiante, T., Andrade, D.M., Wennberg, R., Krings, T., 2022. Imaging in medically refractory epilepsy at 3 Tesla: a 13-year tertiary adult epilepsy center experience. *Insights Imaging* 13, 99. <https://doi.org/10.1186/s13244-022-01236-1>

Hakami, T., McIntosh, A., Todaro, M., Lui, E., Yerra, R., Tan, K.M., French, C., Li, S., Desmond, P., Matkovic, Z., O'Brien, T.J., 2013. MRI-identified pathology in adults with new-onset seizures. *Neurology* 81, 920–927. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a35193>

HaplotypeCaller [WWW Document], 2023. . GATK. URL <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037225632-HaplotypeCaller> (accessed 3.15.23).

Hard-filtering germline short variants [WWW Document], n.d. . GATK. URL <https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360035890471-Hard-filtering-germline-short-variants> (accessed 10.27.22).

Harkin, L.A., Bowser, D.N., Dibbens, L.M., Singh, R., Phillips, F., Wallace, R.H., Richards, M.C., Williams, D.A., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Petrou, S., 2002. Truncation of the GABA(A)-receptor gamma2 subunit in a family with generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am J Hum Genet* 70, 530–536. <https://doi.org/10.1086/338710>

Hauser, W.A., Annegers, J.F., Elveback, L.R., 1980. Mortality in patients with epilepsy. *Epilepsia* 21, 399–412. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1980.tb04088.x>

Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kurland, L.T., 1993. Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935–1984. *Epilepsia* 34, 453–468. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1993.tb02586.x>

Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kurland, L.T., 1991. Prevalence of epilepsy in Rochester, Minnesota: 1940–1980. *Epilepsia* 32, 429–445. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1991.tb04675.x>

Hauser, W.A., Kurland, L.T., 1975. The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia* 16, 1–66.

Hauser, W.A., Rich, S.S., Lee, J.R., Annegers, J.F., Anderson, V.E., 1998. Risk of recurrent seizures after two unprovoked seizures. *N Engl J Med* 338, 429–434. <https://doi.org/10.1056/NEJM199802123380704>

Hedera, P., Blair, M.A., Andermann, E., Andermann, F., D’Agostino, D., Taylor, K.A., Chahine, L., Pandolfo, M., Bradford, Y., Haines, J.L., Abou-Khalil, B., 2007. Familial mesial temporal lobe epilepsy maps to chromosome 4q13.2-q21.3. *Neurology* 68, 2107–2112. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000261246.75977.89>

Hedrich, U.B.S., Lauxmann, S., Wolff, M., Synofzik, M., Bast, T., Binelli, A., Serratos, J.M., Martínez-Ulloa, P., Allen, N.M., King, M.D., Gorman, K.M., Zeev, B.B., Tzadok, M., Wong-Kisiel, L., Marjanovic, D., Rubboli, G., Sisodiya, S.M., Lutz, F., Ashraf, H.P., Torge, K., Yan, P., Bosselmann, C., Schwarz, N., Fudali, M., Lerche, H., 2021. 4-Aminopyridine is a promising treatment option for patients with gain-of-function KCNA2-encephalopathy. *Sci Transl Med* 13, eaaz4957. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz4957>

Hedrich, U.B.S., Liautard, C., Kirschenbaum, D., Pofahl, M., Lavigne, J., Liu, Y., Theiss, S., Slotta, J., Escayg, A., Dihné, M., Beck, H., Mantegazza, M., Lerche, H., 2014. Impaired action potential initiation in GABA-ergic interneurons causes hyperexcitable networks in an epileptic mouse model carrying a human Na(V)1.1 mutation. *J Neurosci* 34, 14874–14889. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0721-14.2014>

Heinzen, E.L., Radtke, R.A., Urban, T.J., Cavalleri, G.L., Depondt, C., Need, A.C., Walley, N.M., Nicoletti, P., Ge, D., Catarino, C.B., Duncan, J.S., Kasperaviciūte, D., Tate, S.K., Caboclo, L.O., Sander, J.W., Clayton, L., Linney, K.N., Shianna, K.V., Gumbs, C.E., Smith, J., Cronin, K.D., Maia, J.M., Doherty, C.P., Pandolfo, M., Leppert, D., Middleton, L.T., Gibson, R.A., Johnson, M.R., Matthews, P.M., Hosford, D., Kälviäinen, R., Eriksson, K., Kantanen, A.-M., Dorn, T., Hansen, J., Krämer, G., Steinhoff, B.J., Wieser, H.-G., Zumsteg, D., Ortega, M., Wood, N.W., Huxley-Jones, J., Mikati, M., Gallentine, W.B., Husain, A.M., Buckley, P.G., Stallings, R.L., Podgoreanu, M.V., Delanty, N., Sisodiya, S.M., Goldstein, D.B., 2010. Rare deletions at 16p13.11 predispose to a diverse spectrum of sporadic epilepsy syndromes. *Am J Hum Genet* 86, 707–718. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.03.018>

Helbig, I., Heinzen, E.L., Mefford, H.C., ILAE Genetics Commission, 2016. Primer Part 1-The building blocks of epilepsy genetics. *Epilepsia* 57, 861–868. <https://doi.org/10.1111/epi.13381>

Helbig, I., Lowenstein, D.H., 2013. Genetics of the epilepsies: where are we and where are we going? *Curr Opin Neurol* 26, 179–185. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee6ff>



Helbig, I., Mefford, H.C., Sharp, A.J., Guipponi, M., Fichera, M., Franke, A., Muhle, H., de Kovel, C., Baker, C., von Spiczak, S., Kron, K.L., Steinich, I., Kleefuss-Lie, A.A., Leu, C., Gaus, V., Schmitz, B., Klein, K.M., Reif, P.S., Rosenow, F., Weber, Y., Lerche, H., Zimprich, F., Urak, L., Fuchs, K., Feucht, M., Genton, P., Thomas, P., Visscher, F., de Haan, G.-J., Møller, R.S., Hjalgrim, H., Luciano, D., Wittig, M., Nothnagel, M., Elger, C.E., Nürnberg, P., Romano, C., Malafosse, A., Koeleman, B.P.C., Lindhout, D., Stephani, U., Schreiber, S., Eichler, E.E., Sander, T., 2009. 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genet* 41, 160–162. <https://doi.org/10.1038/ng.292>

Helbig, K.L., Bernhardt, B.A., Conway, L.J., Valverde, K.D., Helbig, I., Sperling, M.R., 2010. Genetic risk perception and reproductive decision making among people with epilepsy. *Epilepsia* 51, 1874–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02507.x>

Helbig, K.L., Farwell Hagman, K.D., Shinde, D.N., Mroske, C., Powis, Z., Li, S., Tang, S., Helbig, I., 2016. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genet Med* 18, 898–905. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.186>

Hemminki, K., Li, X., Johansson, S.-E., Sundquist, K., Sundquist, J., 2006. Familial risks for epilepsy among siblings based on hospitalizations in Sweden. *Neuroepidemiology* 27, 67–73. <https://doi.org/10.1159/000094976>

Herlenius, E., Heron, S.E., Grinton, B.E., Keay, D., Scheffer, I.E., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., 2007. SCN2A mutations and benign familial neonatal-infantile seizures: the phenotypic spectrum. *Epilepsia* 48, 1138–1142. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01049.x>

Hernández-Miranda, L.R., Parnavelas, J.G., Chiara, F., 2010. Molecules and mechanisms involved in the generation and migration of cortical interneurons. *ASN Neuro* 2, e00031. <https://doi.org/10.1042/AN20090053>

Heron, S.E., Cox, K., Grinton, B.E., Zuberi, S.M., Kivity, S., Afawi, Z., Straussberg, R., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Mulley, J.C., 2007. Deletions or duplications in KCNQ2 can cause benign familial neonatal seizures. *J Med Genet* 44, 791–796. <https://doi.org/10.1136/jmg.2007.051938>

Heron, S.E., Crossland, K.M., Andermann, E., Phillips, H.A., Hall, A.J., Bleasel, A., Shevell, M., Mercho, S., Seni, M.-H., Guiot, M.-C., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., 2002. Sodium-channel defects in benign familial neonatal-infantile seizures. *Lancet* 360, 851–852. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09968-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09968-3)

Heron, S.E., Dibbens, L.M., 2013. Role of PRRT2 in common paroxysmal neurological disorders: a gene with remarkable pleiotropy. *J Med Genet* 50, 133–139. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101406>

Heron, S.E., Smith, K.R., Bahlo, M., Nobili, L., Kahana, E., Licchetta, L., Oliver, K.L., Mazarib, A., Afawi, Z., Korczyn, A., Plazzi, G., Petrou, S., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Dibbens, L.M., 2012. Missense mutations in the sodium-gated potassium channel gene KCNT1 cause severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 44, 1188–1190. <https://doi.org/10.1038/ng.2440>

Hesdorffer, D.C., Shinnar, S., Lewis, D.V., Nordli, D.R., Pellock, J.M., Moshé, S.L., Shinnar, R.C., Litherland, C., Bagiella, E., Frank, L.M., Bello, J.A., Chan, S., Masur, D., Macfall, J., Sun, S., Consequences of Prolonged Febrile Seizures in Childhood (FEBSTAT) Study Team, 2013. Risk factors for febrile status epilepticus: a case-control study. *J Pediatr* 163, 1147–1151.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.05.038>

Hesdorffer, D.C., Tian, H., Anand, K., Hauser, W.A., Ludvigsson, P., Olafsson, E., Kjartansson, O., 2005. Socioeconomic status is a risk factor for epilepsy in Icelandic adults but not in children. *Epilepsia* 46, 1297–1303. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.10705.x>

Higurashi, N., Nakamura, M., Sugai, M., Ohfu, M., Sakauchi, M., Sugawara, Y., Nakamura, K., Kato, M., Usui, D., Mogami, Y., Fujiwara, Y., Ito, T., Ikeda, H., Imai, K., Takahashi, Y., Nukui, M., Inoue, Takeshi, Okazaki, S., Kirino, T., Tomonoh, Y., Inoue, Takahito, Takano, K., Shimakawa, S., Hirose, S., 2013. PCDH19-related female-limited epilepsy: Further details regarding early clinical features and therapeutic efficacy. *Epilepsy Research* 106, 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2013.04.005>

Higurashi, N., Takahashi, Y., Kashimada, A., Sugawara, Y., Sakuma, H., Tomonoh, Y., Inoue, T., Hoshina, M., Satomi, R., Ohfu, M., Itomi, K., Takano, K., Kirino, T., Hirose, S., 2015. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure* 27, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.02.006>

Hildebrand, M.S., Myers, C.T., Carvill, G.L., Regan, B.M., Damiano, J.A., Mullen, S.A., Newton, M.R., Nair, U., Gazina, E.V., Milligan, C.J., Reid, C.A., Petrou, S., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Mefford, H.C., 2016. A targeted resequencing gene panel for focal epilepsy. *Neurology* 86, 1605–1612. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002608>

Hildebrand, M.S., Tankard, R., Gazina, E.V., Damiano, J.A., Lawrence, K.M., Dahl, H.-H.M., Regan, B.M., Shearer, A.E., Smith, R.J.H., Marini, C., Guerrini, R., Labate, A., Gambardella, A., Tinuper, P., Lichetta, L., Baldassari, S., Bisulli, F., Pippucci, T., Scheffer, I.E., Reid, C.A., Petrou, S., Bahlo, M., Berkovic, S.F., 2015. PRIMA1 mutation: a new cause of nocturnal frontal lobe epilepsy. *Ann Clin Transl Neurol* 2, 821–830. <https://doi.org/10.1002/acn3.224>

Hogg, R.C., Raggenbass, M., Bertrand, D., 2003. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 147, 1–46. <https://doi.org/10.1007/s10254-003-0005-1>

Homan, C.C., Pederson, S., To, T.-H., Tan, C., Piltz, S., Corbett, M.A., Wolvetang, E., Thomas, P.Q., Jolly, L.A., Gecz, J., 2018. PCDH19 regulation of neural progenitor cell differentiation suggests asynchrony of neurogenesis as a mechanism contributing to PCDH19 Girls Clustering Epilepsy. *Neurobiol Dis* 116, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.05.004>

Hong, S.E., Shugart, Y.Y., Huang, D.T., Shahwan, S.A., Grant, P.E., Hourihane, J.O., Martin, N.D., Walsh, C.A., 2000. Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nat Genet* 26, 93–96. <https://doi.org/10.1038/79246>

Hoogeveen-Westerveld, M., Wentink, M., van den Heuvel, D., Mozaffari, M., Ekong, R., Povey, S., den Dunnen, J.T., Metcalfe, K., Vallee, S., Krueger, S., Bergoffen, J., Shashi, V., Elmslie, F., Kwiatkowski, D., Sampson, J., Vidales, C., Dzarir, J., Garcia-Planells, J., Dies, K., Maat-Kievit, A., van den Ouweland, A., Halley, D., Nellist, M., 2011. Functional assessment of variants in the TSC1 and TSC2 genes identified in individuals with Tuberous Sclerosis Complex. *Hum Mutat* 32, 424–435. <https://doi.org/10.1002/humu.21451>

Howell, K.B., McMahon, J.M., Carvill, G.L., Tambunan, D., Mackay, M.T., Rodriguez-Casero, V., Webster, R., Clark, D., Freeman, J.L., Calvert, S., Olson, H.E., Mandelstam, S., Poduri, A., Mefford, H.C., Harvey, A.S., Scheffer, I.E., 2015. SCN2A encephalopathy: A major cause of epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Neurology* 85, 958–966. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001926>

Hu, L., Ru, K., Zhang, L., Huang, Y., Zhu, X., Liu, H., Zetterberg, A., Cheng, T., Miao, W., 2014. Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine. *Biomarker Research* 2, 3. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-3>

Huang, J., Manning, B.D., 2008. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J* 412, 179–190. <https://doi.org/10.1042/BJ20080281>

Iffland, P.H., Baybis, M., Barnes, A.E., Leventer, R.J., Lockhart, P.J., Crino, P.B., 2018. DEPDC5 and NPRL3 modulate cell size, filopodial outgrowth, and localization of mTOR in neural progenitor cells and neurons. *Neurobiology of Disease* 114, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.02.013>

Iffland, P.H., Carson, V., Bordey, A., Crino, P.B., 2019. GATORopathies: The role of amino acid regulatory gene mutations in epilepsy and cortical malformations. *Epilepsia* 60, 2163–2173. <https://doi.org/10.1111/epi.16370>

ILAE Consortium on Complex Epilepsies, 2018. Genome-wide mega-analysis identifies 16 loci and highlights diverse biological mechanisms in the common epilepsies. *Nat Commun* 9, 5269. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07524-z>

ILAE Consortium on Complex Epilepsies, 2014. Genetic determinants of common epilepsies: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol* 13, 893–903. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70171-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70171-1)

Illumina Support Center [WWW Document], n.d. URL <https://support.illumina.com/> (accessed 3.15.23).

Inoki, K., Li, Y., Xu, T., Guan, K.-L., 2003. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes Dev* 17, 1829–1834. <https://doi.org/10.1101/gad.1110003>

Ioannidis, N.M., Rothstein, J.H., Pejaver, V., Middha, S., McDonnell, S.K., Baheti, S., Musolf, A., Li, Q., Holzinger, E., Karyadi, D., Cannon-Albright, L.A., Teerlink, C.C., Stanford, J.L., Isaacs, W.B., Xu, J., Cooney, K.A., Lange, E.M., Schleutker, J., Carpten, J.D., Powell, I.J., Cussenot, O., Cancel-Tassin, G., Giles, G.G., MacInnis, R.J., Maier, C., Hsieh, C.-L., Wiklund, F., Catalona, W.J., Foulkes, W.D., Mandal, D., Eeles, R.A., Kote-Jarai, Z., Bustamante, C.D., Schaid, D.J., Hastie, T., Ostrander, E.A., Bailey-Wilson, J.E., Radivojac, P., Thibodeau, S.N., Whittemore, A.S., Sieh, W., 2016. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. *Am J Hum Genet* 99, 877–885. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.016>

Ioannou, P., Foster, D.L., Sander, J.W., Dupont, S., Gil-Nagel, A., Drogon O’Flaherty, E., Alvarez-Baron, E., Medjedovic, J., 2022. The burden of epilepsy and unmet need in people with focal seizures. *Brain Behav* 12, e2589. <https://doi.org/10.1002/brb3.2589>

Ishida, S., Picard, F., Rudolf, G., Noé, E., Achaz, G., Thomas, P., Genton, P., Mundwiller, E., Wolff, M., Marescaux, C., Miles, R., Baulac, M., Hirsch, E., Leguern, E., Baulac, S., 2013. Mutations of DEPDC5 cause autosomal dominant focal epilepsies. *Nat. Genet.* 45, 552–555. <https://doi.org/10.1038/ng.2601>

Ito, M., Kobayashi, K., Fujii, T., Okuno, T., Hirose, S., Iwata, H., Mitsudome, A., Kaneko, S., 2000. Electroclinical picture of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Japanese family. *Epilepsia* 41, 52–58. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.2000.tb01505.x>

Jaber, D., Gitiaux, C., Blesson, S., Marguet, F., Buard, D., Varela Salgado, M., Kaminska, A., Saada, J., Fallet-Bianco, C., Martinovic, J., Laquerriere, A., Melki, J., 2021. De novo mutations of SCN1A are responsible for arthrogryposis broadening the SCN1A-related phenotypes. *J Med Genet* 58, 737–742. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2020-107166>

Jaganathan, K., Panagiotopoulou, S.K., McRae, J.F., Darbandi, S.F., Knowles, D., Li, Y.I., Kosmicki, J.A., Arbelaez, J., Cui, W., Schwartz, G.B., Chow, E.D., Kanterakis, E., Gao, H., Kia, A., Batzoglu, S., Sanders, S.J., Farh, K.K.-H., 2019. Predicting Splicing from Primary Sequence with Deep Learning. *Cell* 176, 535–548.e24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.015>

Jain, K.K., 2002. Personalized medicine. *Curr Opin Mol Ther* 4, 548–558.

Jain, S., Bhatia, M., Tripathi, M., Srivastava, A., Padma, M.V., Pandey, R.M., 2004. Seizures among families of Indian probands with different epileptic syndromes. *Acta Neurol Scand* 110, 27–38. <https://doi.org/10.1046/j.1600-0404.2003.00252.x>

Jallon, P., Smadja, D., Cabre, P., Le Mab, G., Bazin, M., 1999. EPIMART: prospective incidence study of epileptic seizures in newly referred patients in a French Caribbean island (Martinique). *Epilepsia* 40, 1103–1109. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00826.x>

Jamuar, S.S., Lam, A.-T.N., Kircher, M., D’Gama, A.M., Wang, J., Barry, B.J., Zhang, X., Hill, R.S., Partlow, J.N., Rozzo, A., Servattalab, S., Mehta, B.K., Topcu, M., Amrom, D., Andermann, E., Dan, B., Parrini, E., Guerrini, R., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Leventer, R.J., Shen, Y., Wu, B.L., Barkovich, A.J., Sahin, M., Chang, B.S., Bamshad, M., Nickerson, D.A., Shendure, J., Poduri, A., Yu, T.W., Walsh, C.A., 2014. Somatic mutations in cerebral cortical malformations. *N Engl J Med* 371, 733–743. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1314432>

Jansen, L.A., Mirzaa, G.M., Ishak, G.E., O’Roak, B.J., Hiatt, J.B., Roden, W.H., Gunter, S.A., Christian, S.L., Collins, S., Adams, C., Rivière, J.-B., St-Onge, J., Ojemann, J.G., Shendure, J., Hevner, R.F., Dobyns, W.B., 2015. PI3K/AKT pathway mutations cause a spectrum of brain malformations from megalencephaly to focal cortical dysplasia. *Brain* 138, 1613–1628. <https://doi.org/10.1093/brain/awv045>

Janzsky, J., Janzky, I., Ebner, A., 2004. Age at onset in mesial temporal lobe epilepsy with a history of febrile seizures. *Neurology* 63, 1296–1298. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000140701.40447.88>

Jeha, L.E., Najm, I., Bingaman, W., Dinner, D., Widdess-Walsh, P., Lüders, H., 2007. Surgical outcome and prognostic factors of frontal lobe epilepsy surgery. *Brain* 130, 574–584. <https://doi.org/10.1093/brain/awl364>

Jeha, L.E., Najm, I.M., Bingaman, W.E., Khandwala, F., Widdess-Walsh, P., Morris, H.H., Dinner, D.S., Nair, D., Foldvary-Schaeffer, N., Prayson, R.A., Comair, Y., O’Brien, R., Bulacio, J., Gupta, A., Lüders, H.O., 2006. Predictors of outcome after temporal lobectomy for the treatment of intractable epilepsy. *Neurology* 66, 1938–1940. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000219810.71010.9b>

Jo, Y.S., Oh, H.R., Kim, M.S., Yoo, N.J., Lee, S.H., 2016. Frameshift mutations of OGDH, PPAT and PCCA genes in gastric and colorectal cancers. *Neoplasma* 63, 681–686. [https://doi.org/10.4149/neo\\_2016\\_504](https://doi.org/10.4149/neo_2016_504)

Johannesen, K.M., Nikanorova, N., Marjanovic, D., Pavbro, A., Larsen, L.H.G., Rubboli, G., Møller, R.S., 2020. Utility of genetic testing for therapeutic decision-making in adults with epilepsy. *Epilepsia* 61, 1234–1239. <https://doi.org/10.1111/epi.16533>

Johnson, A.F., Nguyen, H.T., Veitia, R.A., 2019. Causes and effects of haploinsufficiency. *Biol Rev Camb Philos Soc* 94, 1774–1785. <https://doi.org/10.1111/brv.12527>

Jozwiak, S., Słowińska, M., Borkowska, J., Sadowski, K., Łojarczyk, B., Domańska-Pakieła, D., Chmielewski, D., Kaczorowska-Frontczak, M., Głowacka, J., Sijko, K., Kotulska, K., 2019. Preventive Antiepileptic Treatment in Tuberous Sclerosis Complex: A Long-Term, Prospective Trial. *Pediatric Neurology* 101, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2019.07.008>

Juberg, R.C., Hellman, C.D., 1971. A new familial form of convulsive disorder and mental retardation limited to females. *The Journal of Pediatrics* 79, 726–732. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(71\)80382-7](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(71)80382-7)

Kalachikov, S., Evgrafov, O., Ross, B., Winawer, M., Barker-Cummings, C., Martinelli Boneschi, F., Choi, C., Morozov, P., Das, K., Teplitskaya, E., Yu, A., Cayanis, E., Penchaszadeh, G., Kottmann, A.H., Pedley, T.A., Hauser, W.A., Ottman, R., Gilliam, T.C., 2002. Mutations in *LGII* cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nat Genet* 30, 335–341. <https://doi.org/10.1038/ng832>

Kalia, S.S., Adelman, K., Bale, S.J., Chung, W.K., Eng, C., Evans, J.P., Herman, G.E., Hufnagel, S.B., Klein, T.E., Korf, B.R., McKelvey, K.D., Ormond, K.E., Richards, C.S., Vlangos, C.N., Watson, M., Martin, C.L., Miller, D.T., 2017. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 19, 249–255. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.190>

Kalume, F., Yu, F.H., Westenbroek, R.E., Scheuer, T., Catterall, W.A., 2007. Reduced sodium current in Purkinje neurons from *Nav1.1* mutant mice: implications for ataxia in severe myoclonic epilepsy in infancy. *J Neurosci* 27, 11065–11074. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2162-07.2007>

Kanai, K., Hirose, S., Oguni, H., Fukuma, G., Shirasaka, Y., Miyajima, T., Wada, K., Iwasa, H., Yasumoto, S., Matsuo, M., Ito, M., Mitsudome, A., Kaneko, S., 2004. Effect of localization of missense mutations in *SCN1A* on epilepsy phenotype severity. *Neurology* 63, 329–334. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000129829.31179.5B>

Kang, J.-Q., Shen, W., Macdonald, R.L., 2006. Why does fever trigger febrile seizures? GABAA receptor gamma2 subunit mutations associated with idiopathic generalized epilepsies have temperature-dependent trafficking deficiencies. *J Neurosci* 26, 2590–2597. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4243-05.2006>

Kaplan, R.E., Lacey, D.J., 1983. Benign familial neonatal-infantile seizures. *Am J Med Genet* 16, 595–599. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320160417>

Kasperaviciute, D., Catarino, C.B., Matarin, M., Leu, C., Novy, J., Tostevin, A., Leal, B., Hessel, E.V.S., Hallmann, K., Hildebrand, M.S., Dahl, H.-H.M., Ryten, M., Trabzuni, D., Ramasamy, A., Alhusaini, S., Doherty, C.P., Dorn, T., Hansen, J., Krämer, G., Steinhoff, B.J., Zumsteg, D., Duncan, S., Kälviäinen, R.K., Eriksson, K.J., Kantanen, A.-M., Pandolfo, M., Gruber-Sedlmayr, U., Schlachter, K., Reinthaler, E.M., Stogmann, E., Zimprich, F., Théâtre, E., Smith, C., O'Brien, T.J., Meng Tan, K., Petrovski, S., Robbiano, A., Paravidino, R., Zara, F., Striano, P., Sperling, M.R., Buono, R.J., Hakonarson, H., Chaves, J., Costa, P.P., Silva, B.M., da Silva, A.M., de Graan, P.N.E., Koeleman, B.P.C., Becker, A., Schoch, S., von Lehe, M., Reif, P.S., Rosenow, F., Becker, F., Weber, Y., Lerche, H., Rössler, K., Buchfelder, M., Hamer, H.M., Kobow, K., Coras, R., Blumcke, I., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Weale, M.E., UK Brain Expression Consortium, Delanty, N., Depondt, C., Cavalleri,

- G.L., Kunz, W.S., Sisodiya, S.M., 2013. Epilepsy, hippocampal sclerosis and febrile seizures linked by common genetic variation around SCN1A. *Brain* 136, 3140–3150. <https://doi.org/10.1093/brain/awt233>
- Kazemi, N.J., So, E.L., Mosewich, R.K., O'Brien, T.J., Cascino, G.D., Trenerry, M.R., Sharbrough, F.W., 1997. Resection of frontal encephalomalacias for intractable epilepsy: outcome and prognostic factors. *Epilepsia* 38, 670–677. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01236.x>
- Khera, A.V., Chaffin, M., Aragam, K.G., Haas, M.E., Roselli, C., Choi, S.H., Natarajan, P., Lander, E.S., Lubitz, S.A., Ellinor, P.T., Kathiresan, S., 2018. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet* 50, 1219–1224. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0183-z>
- Kim, D.W., Lee, S.K., Moon, H.-J., Jung, K.-Y., Chu, K., Chung, C.-K., 2017. Surgical Treatment of Nonlesional Neocortical Epilepsy: Long-term Longitudinal Study. *JAMA Neurol* 74, 324–331. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4439>
- King, M.A., Newton, M.R., Jackson, G.D., Fitt, G.J., Mitchell, L.A., Silvapulle, M.J., Berkovic, S.F., 1998. Epileptology of the first-seizure presentation: a clinical, electroencephalographic, and magnetic resonance imaging study of 300 consecutive patients. *Lancet* 352, 1007–1011. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)03543-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)03543-0)
- Kinney, J.W., Davis, C.N., Tabarean, I., Conti, B., Bartfai, T., Behrens, M.M., 2006. A Specific Role for NR2A-Containing NMDA Receptors in the Maintenance of Parvalbumin and GAD67 Immunoreactivity in Cultured Interneurons. *J. Neurosci.* 26, 1604–1615. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4722-05.2006>
- Kjeldsen, M.J., Corey, L.A., Christensen, K., Friis, M.L., 2003. Epileptic seizures and syndromes in twins: the importance of genetic factors. *Epilepsy Res* 55, 137–146. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(03\)00117-7](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(03)00117-7)
- Klaassen, A., Glykys, J., Maguire, J., Labarca, C., Mody, I., Boulter, J., 2006. Seizures and enhanced cortical GABA-ergic inhibition in two mouse models of human autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 19152–19157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608215103>
- Klein, K.M., O'Brien, T.J., Praveen, K., Heron, S.E., Mulley, J.C., Foote, S., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., 2012. Familial focal epilepsy with variable foci mapped to chromosome 22q12: expansion of the phenotypic spectrum. *Epilepsia* 53, e151-155. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03585.x>
- Klein, P., Dingledine, R., Aronica, E., Bernard, C., Blümcke, I., Boison, D., Brodie, M.J., Brooks-Kayal, A.R., Engel, J., Forcelli, P.A., Hirsch, L.J., Kaminski, R.M., Klitgaard, H., Kobow, K., Lowenstein, D.H., Pearl, P.L., Pitkänen, A., Puhakka, N., Rogawski, M.A., Schmidt, D., Sillanpää, M., Sloviter, R.S., Steinhäuser, C., Vezzani, A., Walker, M.C., Löscher, W., 2018. Commonalities in epileptogenic processes from different acute brain insults: Do they translate? *Epilepsia* 59, 37–66. <https://doi.org/10.1111/epi.13965>
- Klem, G.H., Lüders, H.O., Jasper, H.H., Elger, C., others, 1999. The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 52, 3–6.
- Klepper, J., Diefenbach, S., Kohlschütter, A., Voit, T., 2004. Effects of the ketogenic diet in the glucose transporter 1 deficiency syndrome. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, Metabolic and Health Implications of Moderate Ketosis and the Ketogenic Diet* 70, 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.07.004>

- Klofas, L.K., Short, B.P., Zhou, C., Carson, R.P., 2020. Prevention of premature death and seizures in a *Depdc5* mouse epilepsy model through inhibition of mTORC1. *Hum Mol Genet* 29, 1365–1377. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa068>
- Ko, A., Jung, D.E., Kim, S.H., Kang, H.-C., Lee, J.S., Lee, S.T., Choi, J.R., Kim, H.D., 2018. The Efficacy of Ketogenic Diet for Specific Genetic Mutation in Developmental and Epileptic Encephalopathy. *Front Neurol* 9, 530. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00530>
- Kobayashi, D'Agostino, M.D., Lopes-Cendes, I., Berkovic, S.F., Li, M.L., Andermann, E., Andermann, F., Cendes, F., 2003b. Hippocampal atrophy and T2-weighted signal changes in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 60, 405–409. <https://doi.org/10.1212/wnl.60.3.405>
- Kobayashi, Santos, N.F., Torres, F.R., Secolin, R., Sardinha, L.A.C., Lopez-Cendes, I., Cendes, F., 2003a. Magnetic resonance imaging abnormalities in familial temporal lobe epilepsy with auditory auras. *Arch Neurol* 60, 1546–1551. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.11.1546>
- Koeleman, B.P.C., 2018. What do genetic studies tell us about the heritable basis of common epilepsy? Polygenic or complex epilepsy? *Neurosci Lett* 667, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.042>
- Kolc, K.L., Møller, R.S., Sadleir, L.G., Scheffer, I.E., Kumar, R., Gecz, J., 2020a. PCDH19 Pathogenic Variants in Males: Expanding the Phenotypic Spectrum. *Adv Exp Med Biol* 1298, 177–187. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2020\\_574](https://doi.org/10.1007/5584_2020_574)
- Kolc, K.L., Sadleir, L.G., Depienne, C., Marini, C., Scheffer, I.E., Møller, R.S., Trivisano, M., Specchio, N., Pham, D., Kumar, R., Roberts, R., Gecz, J., 2020b. A standardized patient-centered characterization of the phenotypic spectrum of PCDH19 girls clustering epilepsy. *Transl Psychiatry* 10, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0803-0>
- Kolc, K.L., Sadleir, L.G., Scheffer, I.E., Ivancevic, A., Roberts, R., Pham, D.H., Gecz, J., 2019. A systematic review and meta-analysis of 271 PCDH19-variant individuals identifies psychiatric comorbidities, and association of seizure onset and disease severity. *Mol Psychiatry* 24, 241–251. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0066-9>
- Korenke, G.-C., Eggert, M., Thiele, H., Nürnberg, P., Sander, T., Steinlein, O.K., 2016. Nocturnal frontal lobe epilepsy caused by a mutation in the GATOR1 complex gene NPRL3. *Epilepsia* 57, e60–63. <https://doi.org/10.1111/epi.13307>
- Korff, C.M., Scheffer, I.E., 2013. Epilepsy classification: a cycle of evolution and revolution. *Curr Opin Neurol* 26, 163–167. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee58e>
- Kotsopoulos, I.A.W., van Merode, T., Kessels, F.G.H., de Krom, M.C.T.F.M., Knottnerus, J.A., 2002. Systematic review and meta-analysis of incidence studies of epilepsy and unprovoked seizures. *Epilepsia* 43, 1402–1409. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.t01-1-26901.x>
- Kovačević, M., 2017. Concordance of noninvasive ictal electroencephalographic recordings and epileptogenic lesion localization in focal pharmacoresistant extratemporal epilepsy (Specijalistički akademski rad). Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
- Kovačević, M., Raičević, S., Damjanovic, D., Nikolić, I., Baščarević, V., Ristic, A.J., Vojvodić, N., Janković, S., Lazović, J., Sokić, D., 2015. Congruency of MR imaging and histopathologic diagnosis in surgically treated patients with epilepsy. *Eur J Neurol* 22.

Kowalczyk, M.S., Hughes, J.R., Babbs, C., Sanchez-Pulido, L., Szumska, D., Sharpe, J.A., Sloane-Stanley, J.A., Morriss-Kay, G.M., Smoot, L.B., Roberts, A.E., Watkins, H., Bhattacharya, S., Gibbons, R.J., Ponting, C.P., Wood, W.G., Higgs, D.R., 2012. Nprl3 is required for normal development of the cardiovascular system. *Mamm Genome* 23, 404–415. <https://doi.org/10.1007/s00335-012-9398-y>

Krampf, K., Maljevic, S., Cossette, P., Ziegler, E., Rouleau, G.A., Lerche, H., Bufler, J., 2005. Molecular analysis of the A322D mutation in the GABA receptor alpha-subunit causing juvenile myoclonic epilepsy. *Eur J Neurosci* 22, 10–20. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04168.x>

Kreilkamp, B. a. K., Das, K., Wiesmann, U.C., Biswas, S., Marson, A.G., Keller, S.S., 2019. Neuroradiological findings in patients with “non-lesional” focal epilepsy revealed by research protocol. *Clin Radiol* 74, 78.e1-78.e11. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2018.08.013>

Krenn, M., Wagner, M., Hotzy, C., Graf, E., Weber, S., Brunet, T., Lorenz-Depiereux, B., Kasprian, G., Aull-Watschinger, S., Pataria, E., Stogmann, E., Zimprich, A., Strom, T.M., Meitinger, T., Zimprich, F., 2020. Diagnostic exome sequencing in non-acquired focal epilepsies highlights a major role of GATOR1 complex genes. *J Med Genet* 57, 624–633. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106658>

Krey, I., von Spiczak, S., Johannesen, K.M., Hikel, C., Kurlemann, G., Muhle, H., Beysen, D., Dietel, T., Møller, R.S., Lemke, J.R., Syrbe, S., 2022. L-Serine Treatment is Associated with Improvements in Behavior, EEG, and Seizure Frequency in Individuals with GRIN-Related Disorders Due to Null Variants. *Neurotherapeutics* 19, 334–341. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01173-9>

Kugler, S.L., Bali, B., Lieberman, P., Strug, L., Gagnon, B., Murphy, P.L., Clarke, T., Greenberg, D.A., Pal, D.K., 2008. An autosomal dominant genetically heterogeneous variant of rolandic epilepsy and speech disorder. *Epilepsia* 49, 1086–1090. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01517.x>

Kuks, J.B., Cook, M.J., Fish, D.R., Stevens, J.M., Shorvon, S.D., 1993. Hippocampal sclerosis in epilepsy and childhood febrile seizures. *Lancet* 342, 1391–1394. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92754-h](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92754-h)

Kurian, M., Korff, C.M., Ranza, E., Bernasconi, A., Lübbig, A., Nangia, S., Ramelli, G.P., Wohlrab, G., Nordli, D.R., Bast, T., 2018. Focal cortical malformations in children with early infantile epilepsy and PCDH19 mutations: case report. *Dev Med Child Neurol* 60, 100–105. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13595>

Kwan, P., Arzimanoglou, A., Berg, A.T., Brodie, M.J., Allen Hauser, W., Mathern, G., Moshé, S.L., Perucca, E., Wiebe, S., French, J., 2010. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 51, 1069–1077. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x>

Kwan, P., Brodie, M.J., 2000. Early identification of refractory epilepsy. *N. Engl. J. Med.* 342, 314–319. <https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420503>

Labate, A., Aguglia, U., Tripepi, G., Mumoli, L., Ferlazzo, E., Baggetta, R., Quattrone, A., Gambardella, A., 2016. Long-term outcome of mild mesial temporal lobe epilepsy: A prospective longitudinal cohort study. *Neurology* 86, 1904–1910. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002674>

Lai, D., Gade, M., Yang, E., Koh, H.Y., Lu, J., Walley, N.M., Buckley, A.F., Sands, T.T., Akman, C.I., Mikati, M.A., McKhann, G.M., Goldman, J.E., Canoll, P., Alexander, A.L., Park, K.L., Von Allmen, G.K., Rodziyevska, O., Bhattacharjee, M.B., Lidov, H.G.W., Vogel, H., Grant, G.A., Porter,



B.E., Poduri, A.H., Crino, P.B., Heinzen, E.L., 2022. Somatic variants in diverse genes leads to a spectrum of focal cortical malformations. *Brain* 145, 2704–2720. <https://doi.org/10.1093/brain/awac117>

Lai, M., Huijbers, M.G.M., Lancaster, E., Graus, F., Bataller, L., Balice-Gordon, R., Cowell, J.K., Dalmau, J., 2010. Investigation of LGI1 as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: a case series. *Lancet Neurol* 9, 776–785. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70137-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70137-X)

Lal, D., Reinthaler, E.M., Dejanovic, B., May, P., Thiele, H., Lehesjoki, A.-E., Schwarz, G., Riesch, E., Ikram, M.A., van Duijn, C.M., Uitterlinden, A.G., Hofman, A., Steinböck, H., Gruber-Sedlmayr, U., Neophytou, B., Zara, F., Hahn, A., Genetic Commission of the Italian League against Epilepsy, EuroEPINOMICS CoGIE Consortium, Gormley, P., Becker, F., Weber, Y.G., Cilio, M.R., Kunz, W.S., Krause, R., Zimprich, F., Lemke, J.R., Nürnberg, P., Sander, T., Lerche, H., Neubauer, B.A., 2016. Evaluation of Presumably Disease Causing SCN1A Variants in a Cohort of Common Epilepsy Syndromes. *PLoS One* 11, e0150426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150426>

Lal, D., Steinbrücker, S., Schubert, J., Sander, T., Becker, F., Weber, Y., Lerche, H., Thiele, H., Krause, R., Lehesjoki, A.-E., Nürnberg, P., Palotie, A., Neubauer, B.A., Muhle, H., Stephani, U., Helbig, I., Becker, A.J., Schoch, S., Hansen, J., Dorn, T., Hohl, C., Lüscher, N., Epicure consortium, EuroEPINOMICS-CoGIE consortium, von Spiczak, S., Lemke, J.R., 2015. Investigation of GRIN2A in common epilepsy phenotypes. *Epilepsy Res* 115, 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2015.05.010>

Lamberink, H.J., Otte, W.M., Blümcke, I., Braun, K.P.J., Aichholzer, M., Amorim, I., Aparicio, J., Aronica, E., Arzimanoglou, A., Barba, C., Beck, J., Becker, A., Beckervordersandforth, J.C., Bien, C.G., Blümcke, I., Bodi, I., Braun, K.P., Catenoix, H., Chassoux, F., Chipaux, M., Cloppenburg, T., Coras, R., Cross, J.H., Palma, L.D., Tisi, J.D., Deleo, F., Devaux, B., Gennaro, G.D., Dorfmüller, G., Duncan, J.S., Elger, C., Ernst, K., Esposito, V., Feucht, M., Gadze, Z.P., Garbelli, R., Geleijns, K., Gil-Nagel, A., Grote, A., Grunwald, T., Guerrini, R., Hamer, H., Honavar, M., Jacques, T.S., Jakovcovic, A., Jutila, L., Kalina, A., Kälviäinen, R., Klein, K.M., Koenig, K., Krsek, P., Kudernatsch, M., Kudr, M., Lamberink, H.J., Malmgren, K., Marusic, P., Melikyan, A., Menzler, K., Noachtar, S., Otte, W.M., Özkara, Ç., Pieper, T., Pimentel, J., Raicevic, S., Rheims, S., Ribeiro, J., Rosenow, F., Rössler, K., Rydenhag, B., Sales, F., Antonio-Arce, V.S., Schaller, K.L., Schijns, O., Scholl, T., Schramm, J., Schulze-Bonhage, A., Sciote, R., Seeck, M., Shishkina, L., Sokic, D., Specchio, N., Theys, T., Thom, M., Delgado, R.T., Toulouse, J., Uzan, M., Loon, J. van, Paesschen, W.V., Oertzen, T.J. von, Jansen, F., Leijten, F., Rijen, P. van, Spliet, W.G., Mühlebner, A., Kasper, B.S., Fauser, S., Polster, T., Kalbhenn, T., Delev, D., McEvoy, A., Miserocchi, A., Landré, E., Turak, B., Varlet, P., Ferrand-Sorbets, S., Fohlen, M., Bulteau, C., Edelvik, A., Shah, M.J., Scheiwe, C., Delicado, E.G., Tisdall, M., Eltze, C., Akkol, S., Deniz, K., Oz, B., Holthausen, H., Hartlieb, T., Staudt, M., Casciato, S., Quarato, P.P., Giangaspero, F., Streichenberger, N., Guenot, M., Isnard, J., Valentijn, A., Chang, A., Mullatti, N., Zamecnik, J., Zarubova, J., Tomasek, M., Immonen, A., Saarela, A., Rauramaa, T., Lobrinus, J.A., Egervari, K., Momjian, S., Harti, E., Lohr, H., Kroell, J., Vermeulen, L., Cleeren, E., Vlasov, P., Kozlova, A., Vorobyev, A., Goepfel, G., Samueli, S., Czech, T., Hainfellner, J., Puttinger, G., Schwarz, G., Stefanits, H., Weis, S., Spreafico, R., Villani, F., Rossini, L., Hermsen, A., Knake, S., Nimsky, C., Carl, B., Belohlavkova, A., Benova, B., Bisschop, J., Colon, A., Kranen-Mastenbroek, V. van, Rouhl, R.P., Hoogland, G., Rumiá, J., Ramírez-Camacho, A., Candela-Cantó, S., Ostrowsky-Coste, K., Panagiotakaki, E., Montavont, A., Kosal, P.K., Gokce-Samar, Z., Milleret, C., Buccoliero, A.M., Giordano, F., Sulentic, V., Mrak, G., Desnica, A., CarfiPavia, G., Benedictis, A.D., Marras, C.E., Bascarevic, V., Vojvodic, N., Ristic, A., Rebelo, O., Aledo-Serrano, A., Garcia-Morales, I., Anciones, C., 2020. Seizure outcome and use of antiepileptic drugs after epilepsy surgery according to histopathological diagnosis: a retrospective multicentre cohort study. *The Lancet Neurology* 19, 748–757. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30220-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30220-9)

Landrum, M.J., Lee, J.M., Benson, M., Brown, G.R., Chao, C., Chitipiralla, S., Gu, B., Hart, J., Hoffman, D., Jang, W., Karapetyan, K., Katz, K., Liu, C., Maddipatla, Z., Malheiro, A., McDaniel, K., Ovetsky, M., Riley, G., Zhou, G., Holmes, J.B., Kattman, B.L., Maglott, D.R., 2018. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res* 46, D1062–D1067. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1153>

Laplante, M., Sabatini, D.M., 2012. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* 149, 274–293. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.017>

Larsen, J., Carvill, G.L., Gardella, E., Kluger, G., Schmiedel, G., Barisic, N., Depienne, C., Brilstra, E., Mang, Y., Nielsen, J.E.K., Kirkpatrick, M., Goudie, D., Goldman, R., Jähn, J.A., Jepsen, B., Gill, D., Döcker, M., Biskup, S., McMahon, J.M., Koeleman, B., Harris, M., Braun, K., de Kovel, C.G.F., Marini, C., Specchio, N., Djémié, T., Weckhuysen, S., Tommerup, N., Troncoso, M., Troncoso, L., Bevot, A., Wolff, M., Hjalgrim, H., Guerrini, R., Scheffer, I.E., Mefford, H.C., Møller, R.S., EuroEPINOMICS RES Consortium CRP, 2015. The phenotypic spectrum of SCN8A encephalopathy. *Neurology* 84, 480–489. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001211>

Lasarge, C.L., Danzer, S.C., 2014. Mechanisms regulating neuronal excitability and seizure development following mTOR pathway hyperactivation. *Front Mol Neurosci* 7, 18. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00018>

Laur, D., Dozières-Puyravel, B., Iléa, A., Nava, C., Delanoë, C., Nasser, H., Le Guern, E., Auvin, S., 2021. Focal epilepsy due to de novo SCN1A mutation. *Epileptic Disord* 23, 459–465. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1285>

Lee, B.I., Heo, K., Kim, J.S., Kim, O.J., Park, S.A., Lim, S.R., Kim, D.I., Yoon, P.H., Kim, D.K., 2002. Syndromic diagnosis at the epilepsy clinic: role of MRI in lobar epilepsies. *Epilepsia* 43, 496–504.

Lee, J.A., Carvalho, C.M.B., Lupski, J.R., 2007. A DNA replication mechanism for generating nonrecurrent rearrangements associated with genomic disorders. *Cell* 131, 1235–1247. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.037>

Lee, W.S., Stephenson, S.E.M., Howell, K.B., Pope, K., Gillies, G., Wray, A., Maixner, W., Mandelstam, S.A., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., MacGregor, D., Harvey, A.S., Lockhart, P.J., Leventer, R.J., 2019. Second-hit DEPDC5 mutation is limited to dysmorphic neurons in cortical dysplasia type IIA. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 6, 1338–1344. <https://doi.org/10.1002/acn3.50815>

Lee, W.S., Stephenson, S.E.M., Pope, K., Gillies, G., Maixner, W., Macdonald-Laurs, E., MacGregor, D., D’Arcy, C., Jackson, G., Harvey, A.S., Leventer, R.J., Lockhart, P.J., 2020. Genetic characterization identifies bottom-of-sulcus dysplasia as an mTORopathy. *Neurology* 95, e2542–e2551. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010670>

Leitner, D.F., Kanshin, E., Askenazi, M., Siu, Y., Friedman, D., Devore, S., Jones, D., Ueberheide, B., Wisniewski, T., Devinsky, O., 2022. Pilot study evaluating everolimus molecular mechanisms in tuberous sclerosis complex and focal cortical dysplasia. *PLOS ONE* 17, e0268597. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268597>

Lek, M., Karczewski, K.J., Minikel, E.V., Samocha, K.E., Banks, E., Fennell, T., O’Donnell-Luria, A.H., Ware, J.S., Hill, A.J., Cummings, B.B., Tukiainen, T., Birnbaum, D.P., Kosmicki, J.A., Duncan, L.E., Estrada, K., Zhao, F., Zou, J., Pierce-Hoffman, E., Berghout, J., Cooper, D.N., Deflaux, N., DePristo, M., Do, R., Flannick, J., Fromer, M., Gauthier, L., Goldstein, J., Gupta, N., Howrigan, D., Kiezun, A., Kurki, M.I., Moonshine, A.L., Natarajan, P., Orozco, L., Peloso, G.M., Poplin, R., Rivas, M.A., Ruano-Rubio, V., Rose, S.A., Ruderfer, D.M., Shakir, K., Stenson, P.D., Stevens, C., Thomas,

B.P., Tiao, G., Tusie-Luna, M.T., Weisburd, B., Won, H.-H., Yu, D., Altshuler, D.M., Ardissino, D., Boehnke, M., Danesh, J., Donnelly, S., Elosua, R., Florez, J.C., Gabriel, S.B., Getz, G., Glatt, S.J., Hultman, C.M., Kathiresan, S., Laakso, M., McCarroll, S., McCarthy, M.I., McGovern, D., McPherson, R., Neale, B.M., Palotie, A., Purcell, S.M., Saleheen, D., Scharf, J.M., Sklar, P., Sullivan, P.F., Tuomilehto, J., Tsuang, M.T., Watkins, H.C., Wilson, J.G., Daly, M.J., MacArthur, D.G., Exome Aggregation Consortium, 2016. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 536, 285–291. <https://doi.org/10.1038/nature19057>

Lemke, J.R., Geider, K., Helbig, K.L., Heyne, H.O., Schütz, H., Hentschel, J., Courage, C., Depienne, C., Nava, C., Heron, D., Møller, R.S., Hjalgrim, H., Lal, D., Neubauer, B.A., Nürnberg, P., Thiele, H., Kurlemann, G., Arnold, G.L., Bhambhani, V., Bartholdi, D., Pedurupillay, C.R.J., Misceo, D., Frengen, E., Strømme, P., Dlugos, D.J., Doherty, E.S., Bijlsma, E.K., Ruivenkamp, C.A., Hoffer, M.J.V., Goldstein, A., Rajan, D.S., Narayanan, V., Ramsey, K., Belnap, N., Schrauwen, I., Richholt, R., Koeleman, B.P.C., Sá, J., Mendonça, C., de Kovel, C.G.F., Weckhuysen, S., Hardies, K., De Jonghe, P., De Meirleir, L., Milh, M., Badens, C., Lebrun, M., Busa, T., Francannet, C., Piton, A., Riesch, E., Biskup, S., Vogt, H., Dorn, T., Helbig, I., Michaud, J.L., Laube, B., Syrbe, S., 2016. Delineating the GRIN1 phenotypic spectrum: A distinct genetic NMDA receptor encephalopathy. *Neurology* 86, 2171–2178. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002740>

Lemke, J.R., Lal, D., Reinthaler, E.M., Steiner, I., Nothnagel, M., Alber, M., Geider, K., Laube, B., Schwake, M., Finsterwalder, K., Franke, A., Schilhabel, M., Jähn, J.A., Muhle, H., Boor, R., Van Paesschen, W., Caraballo, R., Fejerman, N., Weckhuysen, S., De Jonghe, P., Larsen, J., Møller, R.S., Hjalgrim, H., Addis, L., Tang, S., Hughes, E., Pal, D.K., Veri, K., Vaheer, U., Talvik, T., Dimova, P., Guerrero López, R., Serratosa, J.M., Linnankivi, T., Lehesjoki, A.-E., Ruf, S., Wolff, M., Buerki, S., Wohlrab, G., Kroell, J., Datta, A.N., Fiedler, B., Kurlemann, G., Kluger, G., Hahn, A., Haberlandt, D.E., Kutzer, C., Sperner, J., Becker, F., Weber, Y.G., Feucht, M., Steinböck, H., Neophythou, B., Ronen, G.M., Gruber-Sedlmayr, U., Geldner, J., Harvey, R.J., Hoffmann, P., Herms, S., Altmüller, J., Toliat, M.R., Thiele, H., Nürnberg, P., Wilhelm, C., Stephani, U., Helbig, I., Lerche, H., Zimprich, F., Neubauer, B.A., Biskup, S., von Spiczak, S., 2013. Mutations in GRIN2A cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes. *Nat Genet* 45, 1067–1072. <https://doi.org/10.1038/ng.2728>

Lemke, J.R., Riesch, E., Scheurenbrand, T., Schubach, M., Wilhelm, C., Steiner, I., Hansen, J., Courage, C., Gallati, S., Bürki, S., Strozzi, S., Simonetti, B.G., Grunt, S., Steinlin, M., Alber, M., Wolff, M., Klopstock, T., Prott, E.C., Lorenz, R., Spaich, C., Rona, S., Lakshminarasimhan, M., Kröll, J., Dorn, T., Krämer, G., Synofzik, M., Becker, F., Weber, Y.G., Lerche, H., Böhm, D., Biskup, S., 2012. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia* 53, 1387–1398. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03516.x>

Lennox, W.G., 1951. The heredity of epilepsy as told by relatives and twins. *J Am Med Assoc* 146, 529–536. <https://doi.org/10.1001/jama.1951.03670060005002>

Leonardi, E., Sartori, S., Vecchi, M., Bettella, E., Polli, R., Palma, L.D., Boniver, C., Murgia, A., 2014. Identification of four novel PCDH19 Mutations and prediction of their functional impact. *Ann Hum Genet* 78, 389–398. <https://doi.org/10.1111/ahg.12082>

Leppert, M., Anderson, V.E., Quattlebaum, T., Stauffer, D., O’Connell, P., Nakamura, Y., Lalouel, J.M., White, R., 1989. Benign familial neonatal convulsions linked to genetic markers on chromosome 20. *Nature* 337, 647–648. <https://doi.org/10.1038/337647a0>

Lerche, H., Shah, M., Beck, H., Noebels, J., Johnston, D., Vincent, A., 2013. Ion channels in genetic and acquired forms of epilepsy. *J Physiol* 591, 753–764. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.240606>

Lerman, M.I., Minna, J.D., 2000. The 630-kb lung cancer homozygous deletion region on human chromosome 3p21.3: identification and evaluation of the resident candidate tumor suppressor genes. The International Lung Cancer Chromosome 3p21.3 Tumor Suppressor Gene Consortium. *Cancer Res* 60, 6116–6133.

Lerner, J.T., Salamon, N., Hauptman, J.S., Velasco, T.R., Hemb, M., Wu, J.Y., Sankar, R., Donald Shields, W., Engel, J., Fried, I., Cepeda, C., Andre, V.M., Levine, M.S., Miyata, H., Yong, W.H., Vinters, H.V., Mathern, G.W., 2009. Assessment and surgical outcomes for mild type I and severe type II cortical dysplasia: a critical review and the UCLA experience. *Epilepsia* 50, 1310–1335. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01998.x>

Lesca, G., Rudolf, G., Bruneau, N., Lozovaya, N., Labalme, A., Boutry-Kryza, N., Salmi, M., Tsintsadze, T., Addis, L., Motte, J., Wright, S., Tsintsadze, V., Michel, A., Doummar, D., Lascelles, K., Strug, L., Waters, P., de Bellescize, J., Vrielynck, P., de Saint Martin, A., Ville, D., Ryvlin, P., Arzimanoglou, A., Hirsch, E., Vincent, A., Pal, D., Burnashev, N., Sanlaville, D., Szepetowski, P., 2013. GRIN2A mutations in acquired epileptic aphasia and related childhood focal epilepsies and encephalopathies with speech and language dysfunction. *Nat Genet* 45, 1061–1066. <https://doi.org/10.1038/ng.2726>

Levira, F., Thurman, D.J., Sander, J.W., Hauser, W.A., Hesdorffer, D.C., Masanja, H., Odermatt, P., Logroscino, G., Newton, C.R., Epidemiology Commission of the International League Against Epilepsy, 2017. Premature mortality of epilepsy in low- and middle-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 58, 6–16. <https://doi.org/10.1111/epi.13603>

Lewis, D.V., Shinnar, S., Hesdorffer, D.C., Bagiella, E., Bello, J.A., Chan, S., Xu, Y., MacFall, J., Gomes, W.A., Moshé, S.L., Mathern, G.W., Pellock, J.M., Nordli, D.R., Frank, L.M., Provenzale, J., Shinnar, R.C., Epstein, L.G., Masur, D., Litherland, C., Sun, S., FEBSTAT Study Team, 2014. Hippocampal sclerosis after febrile status epilepticus: the FEBSTAT study. *Ann Neurol* 75, 178–185. <https://doi.org/10.1002/ana.24081>

LGI1[*gene*] - ClinVar - NCBI [WWW Document], n.d. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar> (accessed 7.2.23).

Lhatoo, S.D., Solomon, J.K., McEvoy, A.W., Kitchen, N.D., Shorvon, S.D., Sander, J.W., 2003. A prospective study of the requirement for and the provision of epilepsy surgery in the United Kingdom. *Epilepsia* 44, 673–676. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.46002.x>

Li, C., Zhi, D., Wang, K., Liu, X., 2022. MetaRNN: differentiating rare pathogenic and rare benign missense SNVs and InDels using deep learning. *Genome Med* 14, 115. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01120-z>

Li, D., Yuan, H., Ortiz-Gonzalez, X.R., Marsh, E.D., Tian, L., McCormick, E.M., Kosobucki, G.J., Chen, W., Schulien, A.J., Chiavacci, R., Tankovic, A., Naase, C., Brueckner, F., von Stülpnagel-Steinbeis, C., Hu, C., Kusumoto, H., Hedrich, U.B.S., Elsen, G., Hörtnagel, K., Aizenman, E., Lemke, J.R., Hakonarson, H., Traynelis, S.F., Falk, M.J., 2016. GRIN2D Recurrent De Novo Dominant Mutation Causes a Severe Epileptic Encephalopathy Treatable with NMDA Receptor Channel Blockers. *Am J Hum Genet* 99, 802–816. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.07.013>

Li, H., Durbin, R., 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25, 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>

Li, J., Toffa, D.H., Lefèbvre, M., Tétreault, M., Cossette, P., Samarut, É., Nguyen, D.K., 2022. Usage of Genetic Panels in an Adult Epilepsy Clinic. *Can J Neurol Sci* 1–7. <https://doi.org/10.1017/cjn.2022.49>

Liao, Y., Deprez, L., Maljevic, S., Pitsch, J., Claes, L., Hristova, D., Jordanova, A., Ala-Mello, S., Bellan-Koch, A., Blazevic, D., Schubert, S., Thomas, E.A., Petrou, S., Becker, A.J., De Jonghe, P., Lerche, H., 2010. Molecular correlates of age-dependent seizures in an inherited neonatal-infantile epilepsy. *Brain* 133, 1403–1414. <https://doi.org/10.1093/brain/awq057>

Licchetta, L., Bisulli, F., Vignatelli, L., Zenesini, C., Di Vito, L., Mostacci, B., Rinaldi, C., Trippi, I., Naldi, I., Plazzi, G., Provini, F., Tinuper, P., 2017. Sleep-related hypermotor epilepsy: Long-term outcome in a large cohort. *Neurology* 88, 70–77. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003459>

Licchetta, L., Pippucci, T., Baldassari, S., Minardi, R., Provini, F., Mostacci, B., Plazzi, G., Tinuper, P., Bisulli, F., Collaborative Group of Italian League Against Epilepsy (LICE) Genetic Study Group on SHE, 2020. Sleep-related hypermotor epilepsy (SHE): Contribution of known genes in 103 patients. *Seizure* 74, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2019.11.009>

Liégeois, F.J., Morgan, A.T., 2012. Neural bases of childhood speech disorders: lateralization and plasticity for speech functions during development. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 439–458. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.07.011>

Lim, J.S., Kim, W., Kang, H.-C., Kim, S.H., Park, A.H., Park, E.K., Cho, Y.-W., Kim, S., Kim, H.M., Kim, J.A., Kim, J., Rhee, H., Kang, S.-G., Kim, H.D., Kim, D., Kim, D.-S., Lee, J.H., 2015. Brain somatic mutations in MTOR cause focal cortical dysplasia type II leading to intractable epilepsy. *Nat Med* 21, 395–400. <https://doi.org/10.1038/nm.3824>

Lin, M., Whitmire, S., Chen, J., Farrel, A., Shi, X., Guo, J.-T., 2017. Effects of short indels on protein structure and function in human genomes. *Sci Rep* 7, 9313. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09287-x>

Lindsten, H., Nyström, L., Forsgren, L., 2000. Mortality risk in an adult cohort with a newly diagnosed unprovoked epileptic seizure: a population-based study. *Epilepsia* 41, 1469–1473. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.2000.tb00124.x>

Liu, A., Xu, X., Yang, X., Jiang, Y., Yang, Z., Liu, X., Wu, Y., Wu, X., Wei, L., Zhang, Y., 2017. The clinical spectrum of female epilepsy patients with PCDH19 mutations in a Chinese population. *Clin Genet* 91, 54–62. <https://doi.org/10.1111/cge.12846>

Liu, F., Du, C., Tian, X., Ma, Y., Zhao, B., Yan, Y., Lin, Z., Lin, P., Zhou, R., Wang, X., 2019. A novel LGII missense mutation causes dysfunction in cortical neuronal migration and seizures. *Brain Res* 1721, 146332. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146332>

Liu, W., An, D., Xiao, J., Li, J., Hao, N., Zhou, D., 2015. Malformations of cortical development and epilepsy: A cohort of 150 patients in western China. *Seizure* 32, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.09.009>

Livingston, J.H., Cross, J.H., Mclellan, A., Birch, R., Zuberi, S.M., 2009. A Novel Inherited Mutation in the Voltage Sensor Region of SCN1A Is Associated With Panayiotopoulos Syndrome in Siblings and Generalized Epilepsy With Febrile Seizures Plus. *J Child Neurol* 24, 503–508. <https://doi.org/10.1177/0883073808324537>

Loewith, R., Jacinto, E., Wullschleger, S., Lorberg, A., Crespo, J.L., Bonenfant, D., Oppliger, W., Jenoe, P., Hall, M.N., 2002. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol Cell* 10, 457–468. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00636-6](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00636-6)

Loiseau, J., Picot, M.C., Loiseau, P., 1999. Short-term mortality after a first epileptic seizure: a population-based study. *Epilepsia* 40, 1388–1392. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb02010.x>

López-Rivera, J.A., Smuk, V., Leu, C., Nasr, G., Vegh, D., Stefanski, A., Pérez-Palma, E., Busch, R., Jehi, L., Najm, I., Blümcke, I., Lal, D., 2022. Incidence and prevalence of major epilepsy-associated brain lesions. *Epilepsy Behav Rep* 18, 100527. <https://doi.org/10.1016/j.ebr.2022.100527>

Löscher, W., Schmidt, D., 2011. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. *Epilepsia* 52, 657–678. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03024.x>

Lossin, C., 2009. A catalog of SCN1A variants. *Brain Dev* 31, 114–130. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2008.07.011>

Lotte, J., Bast, T., Borusiak, P., Coppola, A., Cross, J.H., Dimova, P., Fogarasi, A., Graneß, I., Guerrini, R., Hjalgrim, H., Keimer, R., Korff, C.M., Kurlmann, G., Leiz, S., Linder-Lucht, M., Loddenkemper, T., Makowski, C., Mühe, C., Nicolai, J., Nikanorova, M., Pellacani, S., Philip, S., Ruf, S., Sánchez Fernández, I., Schlachter, K., Striano, P., Sukhudyayn, B., Valcheva, D., Vermeulen, R.J., Weisbrod, T., Wilken, B., Wolf, P., Kluger, G., 2016. Effectiveness of antiepileptic therapy in patients with PCDH19 mutations. *Seizure* 35, 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.01.006>

Lüders, H., Acharya, J., Baumgartner, C., Benbadis, S., Bleasel, A., Burgess, R., Dinner, D.S., Ebner, A., Foldvary, N., Geller, E., Hamer, H., Holthausen, H., Kotagal, P., Morris, H., Meencke, H.J., Noachtar, S., Rosenow, F., Sakamoto, A., Steinhoff, B.J., Tuxhorn, I., Wyllie, E., 1998. Semiological seizure classification. *Epilepsia* 39, 1006–1013. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1998.tb01452.x>

Lüders, H.O., Noachtar, S., 2000. *Atlas and Classification of Electroencephalography*, 1st ed. Saunders, Philadelphia.

Lüders, H.O., Turnbull, J., Kaffashi, F., 2009. Are the dichotomies generalized versus focal epilepsies and idiopathic versus symptomatic epilepsies still valid in modern epileptology? *Epilepsia* 50, 1336–1343. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02074.x>

Luengo, A., Parra, J., Colás, J., Ramos, F., Carreras, T., Fernández-Pozos, M.J., Muñoz, A., Hernando, V., 2001. Prevalence of epilepsy in northeast Madrid. *J Neurol* 248, 762–767. <https://doi.org/10.1007/s004150170091>

Ma, R., Duan, Y., Zhang, Liping, Qi, X., Zhang, Lu, Pan, S., Gao, L., Wang, C., Wang, Y., 2022. SCN1A-Related Epilepsy: Novel Mutations and Rare Phenotypes. *Front Mol Neurosci* 15, 826183. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.826183>

Mac, T.L., Tran, D.-S., Quet, F., Odermatt, P., Preux, P.-M., Tan, C.T., 2007. Epidemiology, aetiology, and clinical management of epilepsy in Asia: a systematic review. *Lancet Neurol* 6, 533–543. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70127-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70127-8)

Madia, F., Striano, P., Gennaro, E., Malacarne, M., Paravidino, R., Biancheri, R., Budetta, M., Cilio, M.R., Gaggero, R., Pierluigi, M., Minetti, C., Zara, F., 2006. Cryptic chromosome deletions

involving SCN1A in severe myoclonic epilepsy of infancy. *Neurology* 67, 1230–1235. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000238513.70878.54>

Maljevic, S., Lerche, H., 2019. Epileptogenesis in Idiopathic Epilepsy, in: Shorvon, S.D., Guerrini, R., Schachter, Trinka, E. (Eds.), *The Causes of Epilepsy: Common and Uncommon Causes in Adults and Children*. Cambridge University Press.

Maljevic, S., Lerche, H., 2013. Potassium channels: a review of broadening therapeutic possibilities for neurological diseases. *J Neurol* 260, 2201–2211. <https://doi.org/10.1007/s00415-012-6727-8>

Mancini, M., Bassani, S., Passafaro, M., 2020. Right Place at the Right Time: How Changes in Protocadherins Affect Synaptic Connections Contributing to the Etiology of Neurodevelopmental Disorders. *Cells* 9, 2711. <https://doi.org/10.3390/cells9122711>

Mandonnet, E., Capelle, L., Duffau, H., 2006. Extension of paralimbic low grade gliomas: toward an anatomical classification based on white matter invasion patterns. *J Neurooncol* 78, 179–185. <https://doi.org/10.1007/s11060-005-9084-y>

Mann, E.O., Mody, I., 2008. The multifaceted role of inhibition in epilepsy: seizure-genesis through excessive GABA-ergic inhibition in autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Curr Opin Neurol* 21, 155–160. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3282f52f5f>

Mantegazza, M., Cestè, S., 2018. Pathophysiological mechanisms of migraine and epilepsy: Similarities and differences. *Neurosci Lett* 667, 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.11.025>

Mantegazza, M., Rusconi, R., Scalmani, P., Avanzini, G., Franceschetti, S., 2010. Epileptogenic ion channel mutations: from bedside to bench and, hopefully, back again. *Epilepsy Res* 92, 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2010.08.003>

Marini, C., Darra, F., Specchio, N., Mei, D., Terracciano, A., Parmeggiani, L., Ferrari, A., Sicca, F., Mastrangelo, M., Spaccini, L., Canopoli, M.L., Cesaroni, E., Zamponi, N., Caffi, L., Ricciardelli, P., Grosso, S., Pisano, T., Canevini, M.P., Granata, T., Accorsi, P., Battaglia, D., Cusmai, R., Vigeveno, F., Dalla Bernardina, B., Guerrini, R., 2012. Focal seizures with affective symptoms are a major feature of PCDH19 gene-related epilepsy. *Epilepsia* 53, 2111–2119. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03649.x>

Marini, C., Scheffer, I.E., Nabbout, R., Mei, D., Cox, K., Dibbens, L.M., McMahon, J.M., Iona, X., Carpintero, R.S., Elia, M., Cilio, M.R., Specchio, N., Giordano, L., Striano, P., Gennaro, E., Cross, J.H., Kivity, S., Neufeld, M.Y., Afawi, Z., Andermann, E., Keene, D., Dulac, O., Zara, F., Berkovic, S.F., Guerrini, R., Mulley, J.C., 2009. SCN1A duplications and deletions detected in Dravet syndrome: implications for molecular diagnosis. *Epilepsia* 50, 1670–1678. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02013.x>

Marsan, E., Baulac, S., 2018. Review: Mechanistic target of rapamycin (mTOR) pathway, focal cortical dysplasia and epilepsy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 44, 6–17. <https://doi.org/10.1111/nan.12463>

Marsan, E., Ishida, S., Schramm, A., Weckhuysen, S., Muraca, G., Lecas, S., Liang, N., Treins, C., Pende, M., Roussel, D., Le Van Quyen, M., Mashimo, T., Kaneko, T., Yamamoto, T., Sakuma, T., Mahon, S., Miles, R., Leguern, E., Charpier, S., Baulac, S., 2016. Depdc5 knockout rat: A novel model of mTORopathy. *Neurobiol Dis* 89, 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.02.010>

Mathew, T., Srikanth, S.G., Satishchandra, P., 2010. Malformations of cortical development (MCDs) and epilepsy: Experience from a tertiary care center in south India. *Seizure* 19, 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.01.005>

Maurer-Morelli, C.V., de Vasconcellos, J.F., Bruxel, E.M., Rocha, C.S., do Canto, A.M., Tedeschi, H., Yasuda, C.L., Cendes, F., Lopes-Cendes, I., 2022. Gene expression profile suggests different mechanisms underlying sporadic and familial mesial temporal lobe epilepsy. *Exp Biol Med (Maywood)* 247, 2233–2250. <https://doi.org/10.1177/15353702221126666>

Maynard, L.M., Leach, J.L., Horn, P.S., Spaeth, C.G., Mangano, F.T., Holland, K.D., Miles, L., Faist, R., Greiner, H.M., 2017. Epilepsy prevalence and severity predictors in MRI-identified focal cortical dysplasia. *Epilepsy Res* 132, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.03.001>

Mazzoleni, S., Bassani, S., 2021. PCDH19 interplay with GABA(A) receptors: a window to DEE9 pathogenetic mechanisms. *Neural Regen Res* 17, 803–805. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.322455>

McClelland, A.C., Gomes, W.A., Shinnar, S., Hesdorffer, D.C., Bagiella, E., Lewis, D.V., Bello, J.A., Chan, S., MacFall, J., Chen, M., Pellock, J.M., Nordli, D.R., Frank, L.M., Moshé, S.L., Shinnar, R.C., Sun, S., FEBSTAT Study Team, 2016. Quantitative Evaluation of Medial Temporal Lobe Morphology in Children with Febrile Status Epilepticus: Results of the FEBSTAT Study. *AJNR Am J Neuroradiol* 37, 2356–2362. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4919>

McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., Daly, M., DePristo, M.A., 2010. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res* 20, 1297–1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>

McKnight, D., Bristow, S.L., Truty, R.M., Morales, A., Stetler, M., Westbrook, M.J., Robinson, K., Riethmaier, D., Borlot, F., Kellogg, M., Hwang, S.T., Berg, A., Aradhya, S., 2022. Multigene Panel Testing in a Large Cohort of Adults With Epilepsy: Diagnostic Yield and Clinically Actionable Genetic Findings. *Neurol Genet* 8, e650. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000650>

McLaren, W., Gil, L., Hunt, S.E., Riat, H.S., Ritchie, G.R.S., Thormann, A., Flicek, P., Cunningham, F., 2016. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biology* 17, 122. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0974-4>

McLellan, A., Phillips, H.A., Rittey, C., Kirkpatrick, M., Mulley, J.C., Goudie, D., Stephenson, J.B.P., Tolmie, J., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Zuberi, S.M., 2003. Phenotypic comparison of two Scottish families with mutations in different genes causing autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 44, 613–617. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.20102.x>

McTague, A., Kurian, M.A., 1993. SLC12A5-Related Epilepsy of Infancy with Migrating Focal Seizures, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Mirzaa, G.M., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

McTague, A., Nair, U., Malhotra, S., Meyer, E., Trump, N., Gazina, E.V., Papandreou, A., Ngoh, A., Ackermann, S., Ambegaonkar, G., Appleton, R., Desurkar, A., Eltze, C., Kneen, R., Kumar, A.V., Lascelles, K., Montgomery, T., Ramesh, V., Samanta, R., Scott, R.H., Tan, J., Whitehouse, W., Poduri, A., Scheffer, I.E., Chong, W.K. “Kling,” Cross, J.H., Topf, M., Petrou, S., Kurian, M.A., 2018. Clinical and molecular characterization of KCNT1-related severe early-onset epilepsy. *Neurology* 90, e55–e66. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004762>



Meadows, L.S., Malhotra, J., Loukas, A., Thyagarajan, V., Kazen-Gillespie, K.A., Koopman, M.C., Krieglner, S., Isom, L.L., Ragsdale, D.S., 2002. Functional and biochemical analysis of a sodium channel beta1 subunit mutation responsible for generalized epilepsy with febrile seizures plus type 1. *J Neurosci* 22, 10699–10709.

Meencke, H.J., Veith, C., 1991. Hippocampal sclerosis in epilepsy, in: Luders, H. (Ed.), *Epilepsy Surgery*. Raven Press, New York, p. 705—715.

Mefford, H.C., Yendle, S.C., Hsu, C., Cook, J., Geraghty, E., McMahon, J.M., Eeg-Olofsson, O., Sadleir, L.G., Gill, D., Ben-Zeev, B., Lerman-Sagie, T., Mackay, M., Freeman, J.L., Andermann, E., Pelakanos, J.T., Andrews, I., Wallace, G., Eichler, E.E., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., 2011. Rare copy number variants are an important cause of epileptic encephalopathies. *Ann Neurol* 70, 974–985. <https://doi.org/10.1002/ana.22645>

Meng, H., Xu, H.-Q., Yu, L., Lin, G.-W., He, N., Su, T., Shi, Y.-W., Li, B., Wang, J., Liu, X.-R., Tang, B., Long, Y.-S., Yi, Y.-H., Liao, W.-P., 2015. The SCN1A mutation database: updating information and analysis of the relationships among genotype, functional alteration, and phenotype. *Hum Mutat* 36, 573–580. <https://doi.org/10.1002/humu.22782>

Menzler, K., Iwinska-Zelder, J., Shiratori, K., Jaeger, R.K., Oertel, W.H., Hamer, H.M., Rosenow, F., Knake, S., 2010. Evaluation of MRI criteria (1.5 T) for the diagnosis of hippocampal sclerosis in healthy subjects. *Epilepsy Res* 89, 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2010.02.010>

Miceli, F., Soldovieri, M.V., Joshi, N., Weckhuysen, S., Cooper, E.C., Tagliatela, M., 1993. KCNQ3-Related Disorders, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Mirzaa, G.M., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Michelucci, R., Nobile, C., 2019. Familial Lateral Temporal Lobe Epilepsy, in: Shorvon, S.D., Guerrini, R., Schachter, Trinkka, E. (Eds.), *The Causes of Epilepsy: Common and Uncommon Causes in Adults and Children*. Cambridge University Press.

Michelucci, R., Pasini, E., Malacrida, S., Striano, P., Bonaventura, C.D., Pulitano, P., Bisulli, F., Egeo, G., Santulli, L., Sofia, V., Gambardella, A., Elia, M., de Falco, A., Neve, A. Ia, Banfi, P., Coppola, G., Avoni, P., Binelli, S., Boniver, C., Pisano, T., Marchini, M., Dazzo, E., Fanciulli, M., Bartolini, Y., Riguzzi, P., Volpi, L., de Falco, F.A., Giallonardo, A.T., Mecarelli, O., Striano, S., Tinuper, P., Nobile, C., 2013. Low penetrance of autosomal dominant lateral temporal epilepsy in Italian families without LGI1 mutations. *Epilepsia* 54, 1288–1297. <https://doi.org/10.1111/epi.12194>

Michelucci, R., Poza, J.J., Sofia, V., de Feo, M.R., Binelli, S., Bisulli, F., Scudellaro, E., Simionati, B., Zimbello, R., D’Orsi, G., Passarelli, D., Avoni, P., Avanzini, G., Tinuper, P., Biondi, R., Valle, G., Mautner, V.F., Stephani, U., Tassinari, C.A., Moschonas, N.K., Siebert, R., Lopez de Munain, A., Perez-Tur, J., Nobile, C., 2003. Autosomal dominant lateral temporal epilepsy: clinical spectrum, new epitempin mutations, and genetic heterogeneity in seven European families. *Epilepsia* 44, 1289–1297. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.20003.x>

Michelucci, R., Scudellaro, E., Testoni, S., Passarelli, D., Riguzzi, P., Diani, E., Vazza, G., Vianello, V., Scabar, A., Mostacciolo, M.L., Volpi, L., Rubboli, G., Pinardi, F., Mancardi, M.M., Tassinari, C.A., Nobile, C., 2008. Familial epilepsy and developmental dysphasia: description of an Italian pedigree with autosomal dominant inheritance and screening of candidate loci. *Epilepsy Res* 80, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2008.03.014>

Miller, I.O., Sotero de Menezes, M.A., 1993. SCN1A Seizure Disorders, in: Adam, M.P., Mirzaa, G.M., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Miller, L.L., Pellock, J.M., DeLorenzo, R.J., Meyer, J.M., Corey, L.A., 1998. Univariate genetic analyses of epilepsy and seizures in a population-based twin study: the Virginia Twin Registry. *Genet Epidemiol* 15, 33–49. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2272\(1998\)15:1<33::AID-GEPI3>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2272(1998)15:1<33::AID-GEPI3>3.0.CO;2-5)

Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16, 1215.

Millichap, J.J., Miceli, F., De Maria, M., Keator, C., Joshi, N., Tran, B., Soldovieri, M.V., Ambrosino, P., Shashi, V., Mikati, M.A., Cooper, E.C., Tagliatela, M., 2017. Infantile spasms and encephalopathy without preceding neonatal seizures caused by KCNQ2 R198Q, a gain-of-function variant. *Epilepsia* 58, e10–e15. <https://doi.org/10.1111/epi.13601>

Millichap, J.J., Park, K.L., Tsuchida, T., Ben-Zeev, B., Carmant, L., Flamini, R., Joshi, N., Levisohn, P.M., Marsh, E., Nangia, S., Narayanan, V., Ortiz-Gonzalez, X.R., Patterson, M.C., Pearl, P.L., Porter, B., Ramsey, K., McGinnis, E.L., Tagliatela, M., Tracy, M., Tran, B., Venkatesan, C., Weckhuysen, S., Cooper, E.C., 2016. KCNQ2 encephalopathy: Features, mutational hot spots, and ezogabine treatment of 11 patients. *Neurol Genet* 2, e96. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000096>

Milligan, C.J., Li, M., Gazina, E.V., Heron, S.E., Nair, U., Trager, C., Reid, C.A., Venkat, A., Younkin, D.P., Dlugos, D.J., Petrovski, S., Goldstein, D.B., Dibbens, L.M., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Petrou, S., 2014. KCNT1 gain of function in 2 epilepsy phenotypes is reversed by quinidine. *Ann Neurol* 75, 581–590. <https://doi.org/10.1002/ana.24128>

Mittal, G.K., Ganguly, G., Bhattacharyya, K.B., Pandit, A., Biswas, A., Roy, A., Senapati, A.K., 2014. Epilepsy patients with malformations of cortical development: Experience from a tertiary care centre in Eastern India. *Journal of Pediatric Neurology* 12, 117–126. <https://doi.org/10.3233/JPN-140651>

Miyata, H., Chiang, A.C.Y., Vinters, H.V., 2004. Insulin signaling pathways in cortical dysplasia and TSC-tubers: tissue microarray analysis. *Ann Neurol* 56, 510–519. <https://doi.org/10.1002/ana.20234>

Mody, I., 2001. Distinguishing between GABA(A) receptors responsible for tonic and phasic conductances. *Neurochem Res* 26, 907–913. <https://doi.org/10.1023/a:1012376215967>

Mohan, K.K., Markand, O.N., Salanova, V., 1996. Diagnostic utility of video EEG monitoring in paroxysmal events. *Acta Neurol. Scand.* 94, 320–325.

Møller, R.S., Wuttke, T.V., Helbig, I., Marini, C., Johannesen, K.M., Brilstra, E.H., Vaher, U., Borggraefe, I., Talvik, I., Talvik, T., Kluger, G., Francois, L.L., Lesca, G., de Bellescize, J., Blichfeldt, S., Chatron, N., Holert, N., Jacobs, J., Swinkels, M., Betzler, C., Syrbe, S., Nikanorova, M., Myers, C.T., Larsen, L.H.G., Vejzovic, S., Pendziwiat, M., von Spiczak, S., Hopkins, S., Dubbs, H., Mang, Y., Mukhin, K., Holthausen, H., van Gassen, K.L., Dahl, H.A., Tommerup, N., Mefford, H.C., Rubboli, G., Guerrini, R., Lemke, J.R., Lerche, H., Muhle, H., Maljevic, S., 2017. Mutations in GABRB3: From febrile seizures to epileptic encephalopathies. *Neurology* 88, 483–492. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003565>

Moloney, P.B., Cavalleri, G.L., Delanty, N., 2021. Epilepsy in the mTORopathies: opportunities for precision medicine. *Brain Commun* 3, fcab222. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab222>

Montenegro, M.A., Guerreiro, M.M., Lopes-Cendes, I., Guerreiro, C.A.M., Cendes, F., 2002a. Interrelationship of Genetics and Prenatal Injury in the Genesis of Malformations of Cortical Development. *Archives of Neurology* 59, 1147–1153. <https://doi.org/10.1001/archneur.59.7.1147>

Montenegro, M.A., Guerreiro, M.M., Lopes-Cendes, I., Guerreiro, C.A.M., Li, L.M., Cendes, F., 2002b. Association of Family History of Epilepsy With Earlier Age at Seizure Onset in Patients With Focal Cortical Dysplasia. *Mayo Clinic Proceedings* 77, 1291–1294. <https://doi.org/10.4065/77.12.1291>

Moon, H.-J., Kim, D.W., Chung, C.-K., Shin, J.-W., Moon, J., Kang, B.S., Lee, S.-T., Jung, K.-H., Chu, K., Jung, K.-Y., Cho, Y.W., Lee, S.K., 2016. Change of Patient Selection Strategy and Improved Surgical Outcome in MRI-negative Neocortical Epilepsy. *J Epilepsy Res* 6, 66–74. <https://doi.org/10.14581/jer.16013>

Moore, K.R., Swallow, C.E., Tsuruda, J.S., 1999. Incidental detection of hippocampal sclerosis on MR images: is it significant? *AJNR Am J Neuroradiol* 20, 1609–1612.

Morales, J., Pujar, S., Loveland, J.E., Astashyn, A., Bennett, R., Berry, A., Cox, E., Davidson, C., Ermolaeva, O., Farrell, C.M., Fatima, R., Gil, L., Goldfarb, T., Gonzalez, J.M., Haddad, D., Hardy, M., Hunt, T., Jackson, J., Joardar, V.S., Kay, M., Kodali, V.K., McGarvey, K.M., McMahon, A., Mudge, J.M., Murphy, D.N., Murphy, M.R., Rajput, B., Rangwala, S.H., Riddick, L.D., Thibaud-Nissen, F., Threadgold, G., Vatsan, A.R., Wallin, C., Webb, D., Flicek, P., Birney, E., Pruitt, K.D., Frankish, A., Cunningham, F., Murphy, T.D., 2022. A joint NCBI and EMBL-EBI transcript set for clinical genomics and research. *Nature* 604, 310–315. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04558-8>

Morante-Redolat, J.M., Gorostidi-Pagola, A., Piquer-Sirerol, S., Sáenz, A., Poza, J.J., Galán, J., Gesk, S., Sarafidou, T., Mautner, V.-F., Binelli, S., Staub, E., Hinzmann, B., French, L., Prud'homme, J.-F., Passarelli, D., Scannapieco, P., Tassinari, C.A., Avanzini, G., Martí-Massó, J.F., Kluwe, L., Deloukas, P., Moschonas, N.K., Michelucci, R., Siebert, R., Nobile, C., Pérez-Tur, J., López de Munain, A., 2002. Mutations in the LGI1/Epitempin gene on 10q24 cause autosomal dominant lateral temporal epilepsy. *Hum Mol Genet* 11, 1119–1128. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.9.1119>

Morgan, C.L., Ahmed, Z., Kerr, M.P., 2000. Social deprivation and prevalence of epilepsy and associated health usage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69, 13–17. <https://doi.org/10.1136/jnnp.69.1.13>

Morrison, L., Akers, A., 1993. Cerebral Cavernous Malformation, Familial, in: Adam, M.P., Mirzaz, G.M., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Gripp, K.W., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

Mullaney, J.M., Mills, R.E., Pittard, W.S., Devine, S.E., 2010. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. *Human Molecular Genetics* 19, R131–R136. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq400>

Myers, C.T., Hollingsworth, G., Muir, A.M., Schneider, A.L., Thuesmann, Z., Knupp, A., King, C., Lacroix, A., Mehaffey, M.G., Berkovic, S.F., Carvill, G.L., Sadleir, L.G., Scheffer, I.E., Mefford, H.C., 2018. Parental Mosaicism in “De Novo” Epileptic Encephalopathies. *N Engl J Med* 378, 1646–1648. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1714579>

Myers, S.J., Yuan, H., Kang, J.-Q., Tan, F.C.K., Traynelis, S.F., Low, C.-M., 2019. Distinct roles of GRIN2A and GRIN2B variants in neurological conditions. *F1000Res* 8, F1000 Faculty Rev-1940. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18949.1>

- Nagarajan, L., Ghosh, S., Dyke, J., Lee, S., Silberstein, J., Azmanov, D., Richard, W., 2022. Epilepsy surgery in PCDH 19 related developmental and epileptic encephalopathy: A case report. *Epilepsy Behav Rep* 19, 100560. <https://doi.org/10.1016/j.ebr.2022.100560>
- Najm, I.M., Tassi, L., Sarnat, H.B., Holthausen, H., Russo, G.L., 2014. Epilepsies associated with focal cortical dysplasias (FCDs). *Acta Neuropathol* 128, 5–19. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1304-0>
- Nascimento, F.A., Borlot, F., Cossette, P., Minassian, B.A., Andrade, D.M., 2015. Two definite cases of sudden unexpected death in epilepsy in a family with a DEPDC5 mutation. *Neurol Genet* 1, e28. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000028>
- Neligan, A., Bell, G.S., Shorvon, S.D., Sander, J.W., 2010. Temporal trends in the mortality of people with epilepsy: a review. *Epilepsia* 51, 2241–2246. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02711.x>
- Neligan, A., Hauser, W.A., Sander, J.W., 2012. The epidemiology of the epilepsies. *Handb Clin Neurol* 107, 113–133. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52898-8.00006-9>
- Neri, S., Mastroianni, G., Gardella, E., Aguglia, U., Rubboli, G., 2022. Epilepsy in neurodegenerative diseases. *Epileptic Disorders* 24, 249–273. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1406>
- Ng, P.C., Henikoff, S., 2003. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res* 31, 3812–3814. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg509>
- Nguyen, D.K., Mbacfou, M.T., Nguyen, D.B., Lasseonde, M., 2013. Prevalence of nonlesional focal epilepsy in an adult epilepsy clinic. *Can J Neurol Sci* 40, 198–202.
- Nguyen, L.H., Brewster, A.L., Clark, M.E., Regnier-Golanov, A., Sunnen, C.N., Patil, V.V., D'Arcangelo, G., Anderson, A.E., 2015. mTOR inhibition suppresses established epilepsy in a mouse model of cortical dysplasia. *Epilepsia* 56, 636–646. <https://doi.org/10.1111/epi.12946>
- Niazi, R., Fanning, E.A., Depienne, C., Sarmady, M., Abou Tayoun, A.N., 2019. A mutation update for the PCDH19 gene causing early-onset epilepsy in females with an unusual expression pattern. *Hum Mutat* 40, 243–257. <https://doi.org/10.1002/humu.23701>
- Nissenkorn, A., Kluger, G., Schubert-Bast, S., Bayat, A., Bobylova, M., Bonanni, P., Ceulemans, B., Coppola, A., Di Bonaventura, C., Feucht, M., Fuchs, A., Gröppel, G., Heimer, G., Herdt, B., Kulikova, S., Mukhin, K., Nicassio, S., Orsini, A., Panagiotou, M., Pringsheim, M., Puest, B., Pylaeva, O., Ramantani, G., Tsekoura, M., Ricciardelli, P., Lerman Sagie, T., Stark, B., Striano, P., van Baalen, A., De Wachter, M., Cerulli Irelli, E., Cuccurullo, C., von Stülpnagel, C., Russo, A., 2023. Perampanel as precision therapy in rare genetic epilepsies. *Epilepsia* 64, 866–874. <https://doi.org/10.1111/epi.17530>
- Nobile, C., Michelucci, R., Andrezza, S., Pasini, E., Tosatto, S.C.E., Striano, P., 2009. LGI1 mutations in autosomal dominant and sporadic lateral temporal epilepsy. *Hum Mutat* 30, 530–536. <https://doi.org/10.1002/humu.20925>
- Nobili, L., Proserpio, P., Combi, R., Provini, F., Plazzi, G., Bisulli, F., Tassi, L., Tinuper, P., 2014. Nocturnal frontal lobe epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 14, 424. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0424-6>
- Noe, K., Sulc, V., Wong-Kissel, L., Wirrell, E., Van Gompel, J.J., Wetjen, N., Britton, J., So, E., Cascino, G.D., Marsh, W.R., Meyer, F., Horinek, D., Giannini, C., Watson, R., Brinkmann, B.H., Stead,

M., Worrell, G.A., 2013. Long-term outcomes after nonlesional extratemporal lobe epilepsy surgery. *JAMA Neurol* 70, 1003–1008. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.209>

Noebels, J.L., Avoli, M., Rogawski, M.A., Olsen, R.W., Delgado-Escueta, A.V. (Eds.), 2012. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*, 4th ed. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD).

nprl3[gene] - ClinVar - NCBI [WWW Document], n.d. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=nprl3%5Bgene%5D&redir=gene> (accessed 6.13.23).

Nykamp, K., Anderson, M., Powers, M., Garcia, J., Herrera, B., Ho, Y.-Y., Kobayashi, Y., Patil, N., Thusberg, J., Westbrook, M., Invitae Clinical Genomics Group, Topper, S., 2017. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med* 19, 1105–1117. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.37>

Ogiwara, I., Miyamoto, H., Morita, N., Atapour, N., Mazaki, E., Inoue, I., Takeuchi, T., Itoharu, S., Yanagawa, Y., Obata, K., Furuichi, T., Hensch, T.K., Yamakawa, K., 2007. Nav1.1 localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons: a circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an *Scn1a* gene mutation. *J Neurosci* 27, 5903–5914. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5270-06.2007>

Oguni, H., Sugama, M., Osawa, M., 2008. Symptomatic parieto-occipital epilepsy as sequela of perinatal asphyxia. *Pediatr Neurol* 38, 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2007.10.016>

Ohkawa, T., Fukata, Y., Yamasaki, M., Miyazaki, T., Yokoi, N., Takashima, H., Watanabe, M., Watanabe, O., Fukata, M., 2013. Autoantibodies to Epilepsy-Related LGI1 in Limbic Encephalitis Neutralize LGI1-ADAM22 Interaction and Reduce Synaptic AMPA Receptors. *J. Neurosci.* 33, 18161–18174. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3506-13.2013>

Okada, M., Zhu, G., Hirose, S., Ito, K.I., Murakami, T., Wakui, M., Kaneko, S., 2003. Age-dependent modulation of hippocampal excitability by KCNQ-channels. *Epilepsy Res* 53, 81–94. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(02\)00249-8](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(02)00249-8)

Okumura, A., Watanabe, K., Negoro, T., 2006. Benign partial epilepsy in infancy long-term outcome and marginal syndromes. *Epilepsy Res* 70 Suppl 1, S168-173. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2005.11.019>

Olafsson, E., Hauser, W.A., 1999. Prevalence of epilepsy in rural Iceland: a population-based study. *Epilepsia* 40, 1529–1534. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb02036.x>

Olafsson, E., Hauser, W.A., Gudmundsson, G., 1998. Long-term survival of people with unprovoked seizures: a population-based study. *Epilepsia* 39, 89–92. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1998.tb01279.x>

Olafsson, E., Ludvigsson, P., Gudmundsson, G., Hesdorffer, D., Kjartansson, O., Hauser, W.A., 2005. Incidence of unprovoked seizures and epilepsy in Iceland and assessment of the epilepsy syndrome classification: a prospective study. *Lancet Neurol* 4, 627–634. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70172-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70172-1)

Oldani, A., Manconi, M., Zucconi, M., Martinelli, C., Ferini-Strambi, L., 2006. Topiramate treatment for nocturnal frontal lobe epilepsy. *Seizure* 15, 649–652. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2006.07.002>

Oldani, A., Zucconi, M., Asselta, R., Modugno, M., Bonati, M.T., Dalprà, L., Malcovati, M., Tenchini, M.L., Smirne, S., Ferini-Strambi, L., 1998. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A video-polysomnographic and genetic appraisal of 40 patients and delineation of the epileptic syndrome. *Brain* 121 ( Pt 2), 205–223. <https://doi.org/10.1093/brain/121.2.205>

Olszewska, D.A., Costello, D.J., 2014. Assessment of the usefulness of magnetic resonance brain imaging in patients presenting with acute seizures. *Ir J Med Sci* 183, 621–624. <https://doi.org/10.1007/s11845-013-1061-4>

Orhan, G., Bock, M., Schepers, D., Ilina, E.I., Reichel, S.N., Löffler, H., Jezutkovic, N., Weckhuysen, S., Mandelstam, S., Suls, A., Danker, T., Guenther, E., Scheffer, I.E., De Jonghe, P., Lerche, H., Maljevic, S., 2014. Dominant-negative effects of KCNQ2 mutations are associated with epileptic encephalopathy. *Ann Neurol* 75, 382–394. <https://doi.org/10.1002/ana.24080>

Orlova, K.A., Crino, P.B., 2010. The tuberous sclerosis complex. *Ann N Y Acad Sci* 1184, 87–105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05117.x>

Ottman, R., Annegers, J.F., Risch, N., Hauser, W.A., Susser, M., 1996a. Relations of genetic and environmental factors in the etiology of epilepsy. *Ann Neurol* 39, 442–449. <https://doi.org/10.1002/ana.410390406>

Ottman, R., Barker-Cummings, C., Leibson, C.L., Vasoli, V.M., Hauser, W.A., Buchhalter, J.R., 2011. Accuracy of family history information on epilepsy and other seizure disorders. *Neurology* 76, 390–396. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182088286>

Ottman, R., Hauser, W.A., Barker-Cummings, C., Lee, J.H., Risch, N., 1997. Segregation analysis of cryptogenic epilepsy and an empirical test of the validity of the results. *Am J Hum Genet* 60, 667–675.

Ottman, R., Lee, J.H., Hauser, W.A., Risch, N., 1998. Are generalized and localization-related epilepsies genetically distinct? *Arch Neurol* 55, 339–344. <https://doi.org/10.1001/archneur.55.3.339>

Ottman, R., Lee, J.H., Risch, N., Hauser, W.A., Susser, M., 1996b. Clinical indicators of genetic susceptibility to epilepsy. *Epilepsia* 37, 353–361.

Ottman, R., Risch, N., 2012. Genetic Epidemiology and Gene Discovery in Epilepsy, in: Noebels, J.L., Avoli, M., Rogawski, M.A., Olsen, R.W., Delgado-Escueta, A.V. (Eds.), *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD).

Ottman, R., Susser, M., 1992. Data collection strategies in genetic epidemiology: The Epilepsy Family Study of Columbia University. *J Clin Epidemiol* 45, 721–727. [https://doi.org/10.1016/0895-4356\(92\)90049-s](https://doi.org/10.1016/0895-4356(92)90049-s)

Ottman, R., Winawer, M.R., Kalachikov, S., Barker-Cummings, C., Gilliam, T.C., Pedley, T.A., Hauser, W.A., 2004. LGI1 mutations in autosomal dominant partial epilepsy with auditory features. *Neurology* 62, 1120–1126. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000120098.39231.6e>

Ouerdiene, A., Messelmani, M., Derbali, H., Mansour, M., Zaouali, J., Mrissa, N., Mrissa, R., 2023. Post-stroke seizures: risk factors and management after ischemic stroke. *Acta Neurol Belg* 123, 145–152. <https://doi.org/10.1007/s13760-021-01742-x>

Pal, D.K., Pong, A.W., Chung, W.K., 2010. Genetic evaluation and counseling for epilepsy. *Nat Rev Neurol* 6, 445–453. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.92>

Palmer, E.E., Schofield, D., Shrestha, R., Kandula, T., Macintosh, R., Lawson, J.A., Andrews, I., Sampaio, H., Johnson, A.M., Farrar, M.A., Cardamone, M., Mowat, D., Elakis, G., Lo, W., Zhu, Y., Ying, K., Morris, P., Tao, J., Dias, K.-R., Buckley, M., Dinger, M.E., Cowley, M.J., Roscioli, T., Kirk, E.P., Bye, A., Sachdev, R.K., 2018. Integrating exome sequencing into a diagnostic pathway for epileptic encephalopathy: Evidence of clinical utility and cost effectiveness. *Mol Genet Genomic Med* 6, 186–199. <https://doi.org/10.1002/mgg3.355>

Pan, Z., Kao, T., Horvath, Z., Lemos, J., Sul, J.-Y., Cranstoun, S.D., Bennett, V., Scherer, S.S., Cooper, E.C., 2006. A common ankyrin-G-based mechanism retains KCNQ and NaV channels at electrically active domains of the axon. *J Neurosci* 26, 2599–2613. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4314-05.2006>

Paoletti, P., Bellone, C., Zhou, Q., 2013. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 14, 383–400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>

Papayannis, C.E., Consalvo, D., Kauffman, M.A., Seifer, G., Oddo, S., D'Alessio, L., Saidon, P., Kochen, S., 2012. Malformations of cortical development and epilepsy in adult patients. *Seizure* 21, 377–384. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2012.03.009>

Papuc, S.M., Abela, L., Steindl, K., Begemann, A., Simmons, T.L., Schmitt, B., Zweier, M., Oneda, B., Socher, E., Crowther, L.M., Wohlrab, G., Gogoll, L., Poms, M., Seiler, M., Papik, M., Baldinger, R., Baumer, A., Asadollahi, R., Kroell-Seger, J., Schmid, R., Iff, T., Schmitt-Mechelke, T., Otten, K., Hackenberg, A., Addor, M.-C., Klein, A., Azzarello-Burri, S., Sticht, H., Joset, P., Plecko, B., Rauch, A., 2019. The role of recessive inheritance in early-onset epileptic encephalopathies: a combined whole-exome sequencing and copy number study. *Eur J Hum Genet* 27, 408–421. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0299-8>

Parker, W.E., Orlova, K.A., Parker, W.H., Birnbaum, J.F., Krymskaya, V.P., Goncharov, D.A., Baybis, M., Helfferich, J., Okochi, K., Strauss, K.A., Crino, P.B., 2013. Rapamycin prevents seizures after depletion of STRADA in a rare neurodevelopmental disorder. *Sci Transl Med* 5, 182ra53. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005271>

Parrino, L., Halasz, P., Tassinari, C.A., Terzano, M.G., 2006. CAP, epilepsy and motor events during sleep: the unifying role of arousal. *Sleep Med Rev* 10, 267–285. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2005.12.004>

Pederick, D.T., Richards, K.L., Piltz, S.G., Kumar, R., Mincheva-Tasheva, S., Mandelstam, S.A., Dale, R.C., Scheffer, I.E., Gecz, J., Petrou, S., Hughes, J.N., Thomas, P.Q., 2018. Abnormal Cell Sorting Underlies the Unique X-Linked Inheritance of PCDH19 Epilepsy. *Neuron* 97, 59-66.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.12.005>

Peljto, A.L., Barker-Cummings, C., Vasoli, V.M., Leibson, C.L., Hauser, W.A., Buchhalter, J.R., Ottman, R., 2014. Familial risk of epilepsy: a population-based study. *Brain* 137, 795–805. <https://doi.org/10.1093/brain/awt368>

Perucca, P., Crompton, D.E., Bellows, S.T., McIntosh, A.M., Kalincik, T., Newton, M.R., Vajda, F.J.E., Scheffer, I.E., Kwan, P., O'Brien, T.J., Tan, K.M., Berkovic, S.F., 2017a. Familial mesial temporal lobe epilepsy and the borderland of déjà vu. *Ann Neurol* 82, 166–176. <https://doi.org/10.1002/ana.24984>

Perucca, P., Scheffer, I.E., Harvey, A.S., James, P.A., Lunke, S., Thorne, N., Gaff, C., Regan, B.M., Damiano, J.A., Hildebrand, M.S., Berkovic, S.F., O'Brien, T.J., Kwan, P., 2017b. Real-world

utility of whole exome sequencing with targeted gene analysis for focal epilepsy. *Epilepsy Res.* 131, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.02.001>

Petrovski, S., Wang, Q., Heinzen, E.L., Allen, A.S., Goldstein, D.B., 2013. Genic intolerance to functional variation and the interpretation of personal genomes. *PLoS Genet* 9, e1003709. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003709>

Phillips, H.A., Favre, I., Kirkpatrick, M., Zuberi, S.M., Goudie, D., Heron, S.E., Scheffer, I.E., Sutherland, G.R., Berkovic, S.F., Bertrand, D., Mulley, J.C., 2001. CHRN2 is the second acetylcholine receptor subunit associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Am J Hum Genet* 68, 225–231. <https://doi.org/10.1086/316946>

Picard, F., Bertrand, S., Steinlein, O.K., Bertrand, D., 1999. Mutated nicotinic receptors responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy are more sensitive to carbamazepine. *Epilepsia* 40, 1198–1209. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00848.x>

Picard, F., Bruel, D., Servent, D., Saba, W., Fruchart-Gaillard, C., Schöllhorn-Peyronneau, M.-A., Roumenov, D., Brodtkorb, E., Zuberi, S., Gambardella, A., Steinborn, B., Hufnagel, A., Valette, H., Bottlaender, M., 2006. Alteration of the in vivo nicotinic receptor density in ADNLFLE patients: a PET study. *Brain* 129, 2047–2060. <https://doi.org/10.1093/brain/aw1156>

Picard, F., Makrythanasis, P., Navarro, V., Ishida, S., de Bellescize, J., Ville, D., Weckhuysen, S., Fosselle, E., Suls, A., De Jonghe, P., Vasselon Raina, M., Lesca, G., Depienne, C., An-Gourfinkel, I., Vlaicu, M., Baulac, M., Mundwiller, E., Couarch, P., Combi, R., Ferini-Strambi, L., Gambardella, A., Antonarakis, S.E., Leguern, E., Steinlein, O., Baulac, S., 2014. DEPDC5 mutations in families presenting as autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 82, 2101–2106. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000488>

Pierson, T.M., Yuan, H., Marsh, E.D., Fuentes-Fajardo, K., Adams, D.R., Markello, T., Golas, G., Simeonov, D.R., Holloman, C., Tankovic, A., Karamchandani, M.M., Schreiber, J.M., Mullikin, J.C., Tiffit, C.J., Toro, C., Boerkoel, C.F., Traynelis, S.F., Gahl, W.A., 2014. GRIN2A mutation and early-onset epileptic encephalopathy: personalized therapy with memantine. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 1, 190–198. <https://doi.org/10.1002/acn3.39>

Pippucci, T., Licchetta, L., Baldassari, S., Palombo, F., Menghi, V., D’Aurizio, R., Leta, C., Stipa, C., Boero, G., d’Orsi, G., Magi, A., Scheffer, I., Seri, M., Tinuper, P., Bisulli, F., 2015. Epilepsy with auditory features: A heterogeneous clinico-molecular disease. *Neurol Genet* 1, e5. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000005>

Pisano, T., Numis, A.L., Heavin, S.B., Weckhuysen, S., Angriman, M., Suls, A., Podesta, B., Thibert, R.L., Shapiro, K.A., Guerrini, R., Scheffer, I.E., Marini, C., Cilio, M.R., 2015. Early and effective treatment of KCNQ2 encephalopathy. *Epilepsia* 56, 685–691. <https://doi.org/10.1111/epi.12984>

Pitkänen, A., Buckmaster, P.S., Galanopoulou, A.S., Moshé, S.L., 2017. *Models of Seizures and Epilepsy*, Second Edition.

Piton, A., Gauthier, J., Hamdan, F.F., Lafrenière, R.G., Yang, Y., Henrion, E., Laurent, S., Noreau, A., Thibodeau, P., Karemera, L., Spiegelman, D., Kuku, F., Duguay, J., Destroismaisons, L., Jolivet, P., Côté, M., Lachapelle, K., Diallo, O., Raymond, A., Marineau, C., Champagne, N., Xiong, L., Gaspar, C., Rivière, J.-B., Tarabeux, J., Cossette, P., Krebs, M.-O., Rapoport, J.L., Addington, A., DeLisi, L.E., Mottron, L., Joobar, R., Fombonne, E., Drapeau, P., Rouleau, G.A., 2011. Systematic



resequencing of X-chromosome synaptic genes in autism spectrum disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 16, 867–880. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.54>

Placencia, M., Shorvon, S.D., Paredes, V., Bimos, C., Sander, J.W., Suarez, J., Cascante, S.M., 1992. Epileptic seizures in an Andean region of Ecuador. Incidence and prevalence and regional variation. *Brain* 115 ( Pt 3), 771–782. <https://doi.org/10.1093/brain/115.3.771>

Platzer, K., Yuan, H., Schütz, H., Winschel, A., Chen, W., Hu, C., Kusumoto, H., Heyne, H.O., Helbig, K.L., Tang, S., Willing, M.C., Tinkle, B.T., Adams, D.J., Depienne, C., Keren, B., Mignot, C., Frengen, E., Strømme, P., Biskup, S., Döcker, D., Strom, T.M., Mefford, H.C., Myers, C.T., Muir, A.M., LaCroix, A., Sadleir, L., Scheffer, I.E., Brilstra, E., Haelst, M.M. van, Smagt, J.J. van der, Bok, L.A., Møller, R.S., Jensen, U.B., Millichap, J.J., Berg, A.T., Goldberg, E.M., Bie, I.D., Fox, S., Major, P., Jones, J.R., Zackai, E.H., Jamra, R.A., Rolfs, A., Leventer, R.J., Lawson, J.A., Roscioli, T., Jansen, F.E., Ranza, E., Korff, C.M., Lehesjoki, A.-E., Courage, C., Linnankivi, T., Smith, D.R., Stanley, C., Mintz, M., McKnight, D., Decker, A., Tan, W.-H., Tarnopolsky, M.A., Brady, L.I., Wolff, M., Dondit, L., Pedro, H.F., Parisotto, S.E., Jones, K.L., Patel, A.D., Franz, D.N., Vanzo, R., Marco, E., Ranells, J.D., Donato, N.D., Dobyns, W.B., Laube, B., Traynelis, S.F., Lemke, J.R., 2017. GRIN2B encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *Journal of Medical Genetics* 54, 460–470. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104509>

Plazzi, G., Tinuper, P., Montagna, P., Provini, F., Lugaresi, E., 1995. Epileptic nocturnal wanderings. *Sleep* 18, 749–756. <https://doi.org/10.1093/sleep/18.9.749>

Poduri, A., Sheidley, B.R., Shostak, S., Ottman, R., 2014. Genetic testing in the epilepsies—developments and dilemmas. *Nat Rev Neurol* 10, 293–299. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.60>

Ponnapatpura, J., Vemanna, S., Ballal, S., Singla, A., 2018. Utility of Magnetic Resonance Imaging Brain Epilepsy Protocol in New-Onset Seizures: How is it Different in Developing Countries? *J Clin Imaging Sci* 8, 43. [https://doi.org/10.4103/jcis.JCIS\\_38\\_18](https://doi.org/10.4103/jcis.JCIS_38_18)

Preux, P.-M., Druet-Cabanac, M., 2005. Epidemiology and aetiology of epilepsy in sub-Saharan Africa. *Lancet Neurol* 4, 21–31. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(04\)00963-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00963-9)

Pritchard, J.K., 2001. Are rare variants responsible for susceptibility to complex diseases? *Am J Hum Genet* 69, 124–137. <https://doi.org/10.1086/321272>

Provini, F., Plazzi, G., Tinuper, P., Vandi, S., Lugaresi, E., Montagna, P., 1999. Nocturnal frontal lobe epilepsy. A clinical and polygraphic overview of 100 consecutive cases. *Brain* 122 ( Pt 6), 1017–1031.

Puskarjov, M., Seja, P., Heron, S.E., Williams, T.C., Ahmad, F., Iona, X., Oliver, K.L., Grinton, B.E., Vutskits, L., Scheffer, I.E., Petrou, S., Blaesse, P., Dibbens, L.M., Berkovic, S.F., Kaila, K., 2014. A variant of KCC2 from patients with febrile seizures impairs neuronal Cl<sup>-</sup> extrusion and dendritic spine formation. *EMBO Rep* 15, 723–729. <https://doi.org/10.1002/embr.201438749>

Ramachandran, N., Girard, J.-M., Turnbull, J., Minassian, B.A., 2009. The autosomal recessively inherited progressive myoclonus epilepsies and their genes. *Epilepsia* 50 Suppl 5, 29–36. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02117.x>

Ream, M.A., Patel, A.D., 2015. Obtaining genetic testing in pediatric epilepsy. *Epilepsia* 56, 1505–1514. <https://doi.org/10.1111/epi.13122>

- Reid, C.A., Bekkers, J.M., Clements, J.D., 1998. N- and P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channels mediate transmitter release with a similar cooperativity at rat hippocampal autapses. *J Neurosci* 18, 2849–2855.
- Reid, C.A., Berkovic, S.F., Petrou, S., 2009. Mechanisms of human inherited epilepsies. *Prog Neurobiol* 87, 41–57. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.016>
- Rentzsch, P., Witten, D., Cooper, G.M., Shendure, J., Kircher, M., 2019. CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic Acids Research* 47, D886–D894. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1016>
- Reutlinger, C., Helbig, I., Gawelczyk, B., Subero, J.I.M., Tönnies, H., Muhle, H., Finsterwalder, K., Vermeer, S., Pfundt, R., Sperner, J., Stefanova, I., Gillissen-Kaesbach, G., von Spiczak, S., van Baalen, A., Boor, R., Siebert, R., Stephani, U., Caliebe, A., 2010. Deletions in 16p13 including GRIN2A in patients with intellectual disability, various dysmorphic features, and seizure disorders of the rolandic region. *Epilepsia* 51, 1870–1873. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02555.x>
- Reynolds, J.R., 1862. Epilepsy: its Symptoms, Treatment, and Relation to other Chronic, Convulsive Diseases. *AJP* 19, 198–209. <https://doi.org/10.1176/ajp.19.2.198>
- Ribierre, T., Baulac, S., 2016. mTOR pathway in familial focal epilepsies. *Oncotarget* 8, 5674–5675. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14234>
- Richards, K.L., Milligan, C.J., Richardson, R.J., Jancovski, N., Grunnet, M., Jacobson, L.H., Undheim, E.A.B., Mobli, M., Chow, C.Y., Herzig, V., Csoti, A., Panyi, G., Reid, C.A., King, G.F., Petrou, S., 2018. Selective NaV1.1 activation rescues Dravet syndrome mice from seizures and premature death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, E8077–E8085. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804764115>
- Richards, M.C., Heron, S.E., Spendlove, H.E., Scheffer, I.E., Grinton, B., Berkovic, S.F., Mulley, J.C., Davy, A., 2004. Novel mutations in the KCNQ2 gene link epilepsy to a dysfunction of the KCNQ2-calmodulin interaction. *J Med Genet* 41, e35. <https://doi.org/10.1136/jmg.2003.013938>
- 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., ACMG Laboratory Quality Assurance Committee, 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. *Genet Med* 17, 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Ricos, M.G., Hodgson, B.L., Pippucci, T., Saidin, A., Ong, Y.S., Heron, S.E., Licchetta, L., Bisulli, F., Bayly, M.A., Hughes, J., Baldassari, S., Palombo, F., Epilepsy Electroclinical Study Group, Santucci, M., Meletti, S., Berkovic, S.F., Rubboli, G., Thomas, P.Q., Scheffer, I.E., Tinuper, P., Geoghegan, J., Schreiber, A.W., Dibbens, L.M., 2016. Mutations in the mammalian target of rapamycin pathway regulators NPRL2 and NPRL3 cause focal epilepsy. *Ann. Neurol.* 79, 120–131. <https://doi.org/10.1002/ana.24547>
- Riney, K., Bogacz, A., Somerville, E., Hirsch, E., Nabbut, R., Scheffer, I.E., Zuberi, S.M., Alsaadi, T., Jain, S., French, J., Specchio, N., Trinka, E., Wiebe, S., Auvin, S., Cabral-Lim, L., Naidoo, A., Perucca, E., Moshé, S.L., Wirrell, E.C., Tinuper, P., 2022. International League Against Epilepsy classification and definition of epilepsy syndromes with onset at a variable age: position statement by the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia* 63, 1443–1474. <https://doi.org/10.1111/epi.17240>

Robens, B.K., Yang, X., McGraw, C.M., Turner, L.H., Robens, C., Thyme, S., Rotenberg, A., Poduri, A., 2022. Mosaic and non-mosaic protocadherin 19 mutation leads to neuronal hyperexcitability in zebrafish. *Neurobiol Dis* 169, 105738. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105738>

Rocca, W.A., Savettieri, G., Anderson, D.W., Meneghini, F., Grigoletto, F., Morgante, L., Reggio, A., Salemi, G., Patti, F., Di Perri, R., Sicilian Neuro-Epidemiologic Study (SNES) Group, 2001. Door-to-door prevalence survey of epilepsy in three Sicilian municipalities. *Neuroepidemiology* 20, 237–241. <https://doi.org/10.1159/000054796>

Rocca, W.A., Sharbrough, F.W., Hauser, W.A., Annegers, J.F., Schoenberg, B.S., 1987. Risk factors for complex partial seizures: a population-based case-control study. *Ann Neurol* 21, 22–31. <https://doi.org/10.1002/ana.410210106>

Roll, P., Rudolf, G., Pereira, S., Royer, B., Scheffer, I.E., Massacrier, A., Valenti, M.-P., Roeckel-Trevisiol, N., Jamali, S., Beclin, C., Seegmuller, C., Metz-Lutz, M.-N., Lemainque, A., Delepine, M., Caloustian, C., de Saint Martin, A., Bruneau, N., Depétris, D., Mattéi, M.-G., Flori, E., Robaglia-Schlupp, A., Lévy, N., Neubauer, B.A., Ravid, R., Marescaux, C., Berkovic, S.F., Hirsch, E., Lathrop, M., Cau, P., Szepetowski, P., 2006. SRPX2 mutations in disorders of language cortex and cognition. *Hum Mol Genet* 15, 1195–1207. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl035>

Romasko, E.J., DeChene, E.T., Balciuniene, J., Akgumus, G.T., Helbig, I., Tarpinian, J.M., Keena, B.A., Vogiatzi, M.G., Zackai, E.H., Izumi, K., Massey, S.L., Tayoun, A.N.A., 2018. PCDH19-related epilepsy in a male with Klinefelter syndrome: Additional evidence supporting PCDH19 cellular interference disease mechanism. *Epilepsy Research* 145, 89–92. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.06.008>

Ronen, G.M., Rosales, T.O., Connolly, M., Anderson, V.E., Leppert, M., 1993. Seizure characteristics in chromosome 20 benign familial neonatal convulsions. *Neurology* 43, 1355–1360. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.7.1355>

Rosanoff, M.J., Ottman, R., 2008. Penetrance of LGI1 mutations in autosomal dominant partial epilepsy with auditory features. *Neurology* 71, 567–571. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000323926.77565.ee>

Rosell, A.M., Pena, L.D.M., Schoch, K., Spillmann, R., Sullivan, J., Hooper, S.R., Jiang, Y.-H., Mathey-Andrews, N., Goldstein, D.B., Shashi, V., 2016. Not the End of the Odyssey: Parental Perceptions of Whole Exome Sequencing (WES) in Pediatric Undiagnosed Disorders. *J Genet Couns* 25, 1019–1031. <https://doi.org/10.1007/s10897-016-9933-1>

Rosenow, F., Alonso-Vanegas, M.A., Baumgartner, C., Blümcke, I., Carreño, M., Gizewski, E.R., Hamer, H.M., Knake, S., Kahane, P., Lüders, H.O., Mathern, G.W., Menzler, K., Miller, J., Otsuki, T., Ozkara, C., Pitkänen, A., Roper, S.N., Sakamoto, A.C., Sure, U., Walker, M.C., Steinhoff, B.J., Surgical Task Force, Commission on Therapeutic Strategies of the ILAE, 2013. Cavernoma-related epilepsy: review and recommendations for management--report of the Surgical Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 54, 2025–2035. <https://doi.org/10.1111/epi.12402>

Ryan, S.G., Chance, P.F., Zou, C.H., Spinner, N.B., Golden, J.A., Smietana, S., 1997. Epilepsy and mental retardation limited to females: an X-linked dominant disorder with male sparing. *Nat Genet* 17, 92–95. <https://doi.org/10.1038/ng0997-92>

Sabatello, M., Phelan, J.C., Hesdorffer, D.C., Shostak, S., Goldsmith, J., Sorge, S.T., Winawer, M.R., Chung, W.K., Ottman, R., 2015. Genetic causal attribution of epilepsy and its implications for felt stigma. *Epilepsia* 56, 1542–1550. <https://doi.org/10.1111/epi.13113>

Sadleir, L.G., Mountier, E.I., Gill, D., Davis, S., Joshi, C., DeVile, C., Kurian, M.A., DDD Study, Mandelstam, S., Wirrell, E., Nickels, K.C., Murali, H.R., Carvill, G., Myers, C.T., Mefford, H.C., Scheffer, I.E., 2017. Not all SCN1A epileptic encephalopathies are Dravet syndrome: Early profound Thr226Met phenotype. *Neurology* 89, 1035–1042. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004331>

Sahly, A.N., Whitney, R., Costain, G., Chau, V., Otsubo, H., Ochi, A., Donner, E.J., Cunningham, J., Jones, K.C., Widjaja, E., Ibrahim, G.M., Jain, P., 2023. Epilepsy surgery outcomes in patients with GATOR1 gene complex variants: Report of new cases and review of literature. *Seizure* 107, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2023.03.004>

Samanta, D., 2023. GRIN2A-related epilepsy and speech disorders: A comprehensive overview with a focus on the role of precision therapeutics. *Epilepsy Research* 189, 107065. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.107065>

Samanta, D., 2022. DEPDC5-related epilepsy: A comprehensive review. *Epilepsy Behav* 130, 108678. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108678>

Samanta, D., 2020. PCDH19-Related Epilepsy Syndrome: A Comprehensive Clinical Review. *Pediatr Neurol* 105, 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2019.10.009>

Sancar, F., Czajkowski, C., 2004. A GABAA receptor mutation linked to human epilepsy (gamma2R43Q) impairs cell surface expression of alphabeta gamma receptors. *J Biol Chem* 279, 47034–47039. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403388200>

Sánchez Fernández, I., Loddenkemper, T., Gaínza-Lein, M., Sheidley, B.R., Poduri, A., 2019. Diagnostic yield of genetic tests in epilepsy. *Neurology* 92, e418–e428. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006850>

Sánchez, J., Centanaro, M., Solís, J., Delgado, F., Yépez, L., 2014. Factors predicting the outcome following medical treatment of mesial temporal epilepsy with hippocampal sclerosis. *Seizure* 23, 448–453. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2014.03.003>

Sander, J.W., 2003. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol* 16, 165–170. <https://doi.org/10.1097/01.wco.0000063766.15877.8e>

Sander, J.W., 1993. Some aspects of prognosis in the epilepsies: a review. *Epilepsia* 34, 1007–1016. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1993.tb02126.x>

Sanders, S.J., Campbell, A.J., Cottrell, J.R., Moller, R.S., Wagner, F.F., Auldridge, A.L., Bernier, R.A., Catterall, W.A., Chung, W.K., Empfield, J.R., George, A.L., Hipp, J.F., Khwaja, O., Kiskinis, E., Lal, D., Malhotra, D., Millichap, J.J., Otis, T.S., Petrou, S., Pitt, G., Schust, L.F., Taylor, C.M., Tjernagel, J., Spiro, J.E., Bender, K.J., 2018. Progress in Understanding and Treating SCN2A-Mediated Disorders. *Trends in Neurosciences* 41, 442–456. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.011>

Sands, T.T., Balestri, M., Bellini, G., Mulkey, S.B., Danhaive, O., Bakken, E.H., Tagliatela, M., Oldham, M.S., Vigeveno, F., Holmes, G.L., Cilio, M.R., 2016. Rapid and safe response to low-dose carbamazepine in neonatal epilepsy. *Epilepsia* 57, 2019–2030. <https://doi.org/10.1111/epi.13596>

Sansoni, V., Nobili, L., Proserpio, P., Ferini-Strambi, L., Combi, R., 2012. A de novo mutation in an Italian sporadic patient affected by nocturnal frontal lobe epilepsy. *J Sleep Res* 21, 352–353. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2011.00986.x>

Scerri, T., Riseley, J.R., Gillies, G., Pope, K., Burgess, R., Mandelstam, S.A., Dibbens, L., Chow, C.W., Maixner, W., Harvey, A.S., Jackson, G.D., Amor, D.J., Delatycki, M.B., Crino, P.B., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Bahlo, M., Lockhart, P.J., Leventer, R.J., 2015. Familial cortical dysplasia type IIA caused by a germline mutation in DEPDC5. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 2, 575–580. <https://doi.org/10.1002/acn3.191>

Scheel, H., Tomiuk, S., Hofmann, K., 2002. A common protein interaction domain links two recently identified epilepsy genes. *Hum Mol Genet* 11, 1757–1762. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.15.1757>

Scheffer, Berkovic Samuel, Capovilla Giuseppe, Connolly Mary B., French Jacqueline, Guilhoto Laura, Hirsch Edouard, Jain Satish, Mathern Gary W., Moshé Solomon L., Nordli Douglas R., Perucca Emilio, Tomson Torbjörn, Wiebe Samuel, Zhang Yue-Hua, Zuberi Sameer M., 2017. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58, 512–521. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>

Scheffer, I.E., 2000. Autosomal dominant rolandic epilepsy with speech dyspraxia. *Epileptic Disord* 2 Suppl 1, S19-22.

Scheffer, I.E., Bhatia, K.P., Lopes-Cendes, I., Fish, D.R., Marsden, C.D., Andermann, E., Andermann, F., Desbiens, R., Keene, D., Cendes, F., 1995a. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A distinctive clinical disorder. *Brain* 118 ( Pt 1), 61–73. <https://doi.org/10.1093/brain/118.1.61>

Scheffer, I.E., Bhatia, K.P., Lopes-Cendes, I., Fish, D.R., Marsden, C.D., Andermann, F., Andermann, E., Desbiens, R., Cendes, F., Manson, J.I., 1994. Autosomal dominant frontal epilepsy misdiagnosed as sleep disorder. *Lancet* 343, 515–517. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)91463-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91463-x)

Scheffer, I.E., Harkin, L.A., Grinton, B.E., Dibbens, L.M., Turner, S.J., Zielinski, M.A., Xu, R., Jackson, G., Adams, J., Connellan, M., Petrou, S., Wellard, R.M., Briellmann, R.S., Wallace, R.H., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., 2007. Temporal lobe epilepsy and GEFS+ phenotypes associated with SCN1B mutations. *Brain* 130, 100–109. <https://doi.org/10.1093/brain/awl272>

Scheffer, I.E., Heron, S.E., Regan, B.M., Mandelstam, S., Crompton, D.E., Hodgson, B.L., Licchetta, L., Provini, F., Bisulli, F., Vadlamudi, L., Gecz, J., Connelly, A., Tinuper, P., Ricos, M.G., Berkovic, S.F., Dibbens, L.M., 2014. Mutations in mammalian target of rapamycin regulator DEPDC5 cause focal epilepsy with brain malformations. *Ann. Neurol.* 75, 782–787. <https://doi.org/10.1002/ana.24126>

Scheffer, I.E., Jones, L., Pozzebon, M., Howell, R.A., Saling, M.M., Berkovic, S.F., 1995b. Autosomal dominant rolandic epilepsy and speech dyspraxia: a new syndrome with anticipation. *Ann Neurol* 38, 633–642. <https://doi.org/10.1002/ana.410380412>

Scheffer, I.E., Phillips, H.A., O'Brien, C.E., Saling, M.M., Wrennall, J.A., Wallace, R.H., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., 1998. Familial partial epilepsy with variable foci: a new partial epilepsy syndrome with suggestion of linkage to chromosome 2. *Ann Neurol* 44, 890–899. <https://doi.org/10.1002/ana.410440607>

Scheffer, I.E., Turner, S.J., Dibbens, L.M., Bayly, M.A., Friend, K., Hodgson, B., Burrows, L., Shaw, M., Wei, C., Ullmann, R., Ropers, H.-H., Szepetowski, P., Haan, E., Mazarib, A., Afawi, Z., Neufeld, M.Y., Andrews, P.I., Wallace, G., Kivity, S., Lev, D., Lerman-Sagie, T., Derry, C.P., Korczyn, A.D., Gecz, J., Mulley, J.C., Berkovic, S.F., 2008. Epilepsy and mental retardation limited to females: an under-recognized disorder. *Brain* 131, 918–927. <https://doi.org/10.1093/brain/awm338>

Scheffer, I.E., Zhang, Y.-H., Jansen, F.E., Dibbens, L., 2009. Dravet syndrome or genetic (generalized) epilepsy with febrile seizures plus? *Brain Dev.* 31, 394–400. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2009.01.001>

Schubert-Bast, S., Rosenow, F., Klein, K.M., Reif, P.S., Kieslich, M., Strzelczyk, A., 2019. The role of mTOR inhibitors in preventing epileptogenesis in patients with TSC: Current evidence and future perspectives. *Epilepsy & Behavior, Individualized Epilepsy Management: Medicines, Surgery and Beyond* 91, 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.05.039>

Schwake, M., Jentsch, T.J., Friedrich, T., 2003. A carboxy-terminal domain determines the subunit specificity of KCNQ K<sup>+</sup> channel assembly. *EMBO Rep* 4, 76–81. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor715>

SCN1A[*gene*] - ClinVar - NCBI [WWW Document], n.d. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?gr=1> (accessed 2.24.23).

Selyanko, A.A., Hadley, J.K., Brown, D.A., 2001. Properties of single M-type KCNQ2/KCNQ3 potassium channels expressed in mammalian cells. *J Physiol* 534, 15–24. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.00015.x>

Semah, F., Picot, M.C., Adam, C., Broglin, D., Arzimanoglou, A., Bazin, B., Cavalcanti, D., Baulac, M., 1998. Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology* 51, 1256–1262.

Sen, A.G., Johnson, M.R., 2019. An Introduction to Epilepsy Genetics, in: Shorvon, S.D., Guerrini, R., Schachter, Trinka, E. (Eds.), *The Causes of Epilepsy: Common and Uncommon Causes in Adults and Children*. Cambridge University Press.

Serratto, G.M., Pizzi, E., Murru, L., Mazzoleni, S., Pelucchi, S., Marcello, E., Mazzanti, M., Passafaro, M., Bassani, S., 2020. The Epilepsy-Related Protein PCDH19 Regulates Tonic Inhibition, GABAAR Kinetics, and the Intrinsic Excitability of Hippocampal Neurons. *Mol Neurobiol* 57, 5336–5351. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02099-7>

Sforza, E., Montagna, P., Rinaldi, R., Tinuper, P., Cerullo, A., Cirignotta, F., Lugaresi, E., 1993. Paroxysmal periodic motor attacks during sleep: clinical and polygraphic features. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 86, 161–166. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(93\)90003-e](https://doi.org/10.1016/0013-4694(93)90003-e)

Shackleton, D.P., Westendorp, R.G.J., Kasteleijn-Nolst Trenité, D.G.A., de Craen, A.J.M., Vandenbroucke, J.P., 2002. Survival of patients with epilepsy: an estimate of the mortality risk. *Epilepsia* 43, 445–450. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.10301.x>

Sharma, K., Kalakoti, P., Shaughnessy, J.E., De La Cruz, N., Dossani, R.H., Zhu, P., Gonzalez-Toledo, E., Ledbetter, C., Pinski, J.B., Nanda, A., Riel-Romero, R.M., Minagar, A., Notarianni, C., Sun, H., 2016. Psammomatous Cavernous Malformation Presenting as Drug-Resistant Epilepsy: Case Illustration and Review of Literature. *World Neurosurg* 93, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.05.093>

Sheidley, B.R., Malinowski, J., Bergner, A.L., Bier, L., Gloss, D.S., Mu, W., Mulhern, M.M., Partack, E.J., Poduri, A., 2022. Genetic testing for the epilepsies: A systematic review. *Epilepsia* 63, 375–387. <https://doi.org/10.1111/epi.17141>

Shellhaas, R.A., Wusthoff, C.J., Tsuchida, T.N., Glass, H.C., Chu, C.J., Massey, S.L., Soul, J.S., Wiwattanadittakun, N., Abend, N.S., Cilio, M.R., Neonatal Seizure Registry, 2017. Profile of neonatal

epilepsies: Characteristics of a prospective US cohort. *Neurology* 89, 893–899. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004284>

Shen, K., Huang, R.K., Brignole, E.J., Condon, K.J., Valenstein, M.L., Chantranupong, L., Bomaliyamu, A., Choe, A., Hong, C., Yu, Z., Sabatini, D.M., 2018. Architecture of the human GATOR1 and GATOR1–Rag GTPases complexes. *Nature* 556, 64–69. <https://doi.org/10.1038/nature26158>

Shi, X.-Y., Tomonoh, Y., Wang, W.-Z., Ishii, A., Higurashi, N., Kurahashi, H., Kaneko, S., Hirose, S., 2016. Efficacy of antiepileptic drugs for the treatment of Dravet syndrome with different genotypes. *Brain and Development* 38, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2015.06.008>

Shibata, M., Ishii, A., Goto, A., Hirose, S., 2021. Comparative characterization of PCDH19 missense and truncating variants in PCDH19-related epilepsy. *J Hum Genet* 66, 569–578. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-00880-z>

Shih, Y.-C., Chou, C.-C., Peng, S.-J., Yu, H.-Y., Hsu, S.P.C., Lin, C.-F., Lee, C.-C., Yang, H.-C., Chen, Y.-C., Kwan, S.-Y., Chen, C., Wang, S.-J., Lin, C.-J., Lirng, J.-F., Shih, Y.-H., Yen, D.-J., Liu, Y.-T., 2022. Clinical characteristics and long-term outcome of cerebral cavernous malformations-related epilepsy. *Epilepsia* 63, 2056–2067. <https://doi.org/10.1111/epi.17309>

Shorvon, S., 2014. The concept of symptomatic epilepsy and the complexities of assigning cause in epilepsy. *Epilepsy Behav* 32, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.12.025>

Shorvon, S.D., Guerrini, R., Schachter, Trinkka, E., 2019. *The causes of epilepsy: Common and uncommon causes in adults and children.* . Cambridge University Press.

Shostak, S., Zarhin, D., Ottman, R., 2011. What’s at stake? Genetic information from the perspective of people with epilepsy and their family members. *Soc Sci Med* 73, 645–654. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2011.06.043>

Sieghart, W., Fuchs, K., Tretter, V., Ebert, V., Jechlinger, M., Höger, H., Adamiker, D., 1999. Structure and subunit composition of GABA(A) receptors. *Neurochem Int* 34, 379–385. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(99\)00045-5](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(99)00045-5)

Sillanpää, M., Anttinen, A., Rinne, J.O., Joutsa, J., Sonninen, P., Erkinjuntti, M., Hermann, B., Karrasch, M., Saarinen, M., Tiitta, P., Shinnar, S., 2015. Childhood-onset epilepsy five decades later. A prospective population-based cohort study. *Epilepsia* 56, 1774–1783. <https://doi.org/10.1111/epi.13187>

Sillanpää, M., Jalava, M., Shinnar, S., 1999. Epilepsy syndromes in patients with childhood-onset seizures in Finland. *Pediatric Neurology* 21, 533–537. [https://doi.org/10.1016/S0887-8994\(99\)00031-4](https://doi.org/10.1016/S0887-8994(99)00031-4)

Sillanpää, M., Koskenvuo, M., Romanov, K., Kaprio, J., 1991. Genetic factors in epileptic seizures: evidence from a large twin population. *Acta Neurol Scand* 84, 523–526. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1991.tb05886.x>

Sillanpää, M., Lastunen, S., Helenius, H., Schmidt, D., 2011. Regional differences and secular trends in the incidence of epilepsy in Finland: a nationwide 23-year registry study. *Epilepsia* 52, 1857–1867. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03186.x>

Sillanpää, M., Schmidt, D., 2006. Prognosis of seizure recurrence after stopping antiepileptic drugs in seizure-free patients: A long-term population-based study of childhood-onset epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 8, 713–719. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2006.02.014>

- Sillanpää, M., Shinnar, S., 2010. Long-term mortality in childhood-onset epilepsy. *N Engl J Med* 363, 2522–2529. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0911610>
- Silva, B., Canas-Simião, H., Cordeiro, S., Velosa, A., Oliveira-Maia, A.J., Barahona-Corrêa, J.B., 2019. Determinants of quality of life in patients with drug-resistant focal epilepsy. *Epilepsy Behav* 100, 106525. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106525>
- Silva, J., Hawthorn, L., Cowell, J.K., 2020. Inactivation of *Lgi1* in murine neuronal precursor cells leads to dysregulation of axon guidance pathways. *Genomics* 112, 1167–1172. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.07.001>
- Silva, J., Wang, G., Cowell, J.K., 2011. The temporal and spatial expression pattern of the *LGI1* epilepsy predisposition gene during mouse embryonic cranial development. *BMC Neuroscience* 12, 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-12-43>
- Sim, J.C., Scerri, T., Fanjul-Fernández, M., Riseley, J.R., Gillies, G., Pope, K., van Roozendaal, H., Heng, J.I., Mandelstam, S.A., McGillivray, G., MacGregor, D., Kannan, L., Maixner, W., Harvey, A.S., Amor, D.J., Delatycki, M.B., Crino, P.B., Bahlo, M., Lockhart, P.J., Leventer, R.J., 2016. Familial cortical dysplasia caused by mutation in the mammalian target of rapamycin regulator *NPRL3*. *Annals of Neurology* 79, 132–137. <https://doi.org/10.1002/ana.24502>
- Sim, N.S., Ko, A., Kim, W.K., Kim, S.H., Kim, J.S., Shim, K.-W., Aronica, E., Mijnsbergen, C., Spliet, W.G.M., Koh, H.Y., Kim, H.D., Lee, J.S., Kim, D.S., Kang, H.-C., Lee, J.H., 2019. Precise detection of low-level somatic mutation in resected epilepsy brain tissue. *Acta Neuropathol* 138, 901–912. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02052-6>
- Sim, N.S., Seo, Y., Lim, J.S., Kim, W.K., Son, H., Kim, H.D., Kim, S., An, H.J., Kang, H.-C., Kim, S.H., Kim, D.-S., Lee, J.H., 2018. Brain somatic mutations in *SLC35A2* cause intractable epilepsy with aberrant N-glycosylation. *Neurology Genetics* 4. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000294>
- Simasathien, T., Vadera, S., Najm, I., Gupta, A., Bingaman, W., Jehi, L., 2013. Improved outcomes with earlier surgery for intractable frontal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 73, 646–654. <https://doi.org/10.1002/ana.23862>
- Sirerol-Piquer, M.S., Ayerdi-Izquierdo, A., Morante-Redolat, J.M., Herranz-Pérez, V., Favell, K., Barker, P.A., Pérez-Tur, J., 2006. The epilepsy gene *LGI1* encodes a secreted glycoprotein that binds to the cell surface. *Hum Mol Genet* 15, 3436–3445. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl421>
- Skjei, K.L., Church, E.W., Harding, B.N., Santi, M., Holland-Bouley, K.D., Clancy, R.R., Porter, B.E., Heuer, G.G., Marsh, E.D., 2015. Clinical and histopathological outcomes in patients with *SCN1A* mutations undergoing surgery for epilepsy. *J Neurosurg Pediatr* 16, 668–674. <https://doi.org/10.3171/2015.5.PEDS14551>
- Smith, L., Singhal, N., El Achkar, C.M., Truglio, G., Rosen Sheidley, B., Sullivan, J., Poduri, A., 2018. *PCDH19*-related epilepsy is associated with a broad neurodevelopmental spectrum. *Epilepsia* 59, 679–689. <https://doi.org/10.1111/epi.14003>
- Son, C.D., Moss, F.J., Cohen, B.N., Lester, H.A., 2009. Nicotine normalizes intracellular subunit stoichiometry of nicotinic receptors carrying mutations linked to autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Mol Pharmacol* 75, 1137–1148. <https://doi.org/10.1124/mol.108.054494>
- Sone, D., Sugawara, T., Sakakibara, E., Tomioka, Y., Taniguchi, G., Murata, Y., Watanabe, M., Kaneko, S., 2012. A case of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE) coexisting



with pervasive developmental disorder harboring SCN1A mutation in addition to CHRN2 mutation. *Epilepsy & Behavior* 25, 192–195. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.07.027>

Sorge, G., Sorge, A., 2010. Epilepsy and chromosomal abnormalities. *Ital J Pediatr* 36, 36. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-36>

Specchio, N., Wirrell, E.C., Scheffer, I.E., Nabbout, R., Riney, K., Samia, P., Guerreiro, M., Gwer, S., Zuberi, S.M., Wilmshurst, J.M., Yozawitz, E., Pressler, R., Hirsch, E., Wiebe, S., Cross, H.J., Perucca, E., Moshé, S.L., Tinuper, P., Auvin, S., 2022. International League Against Epilepsy classification and definition of epilepsy syndromes with onset in childhood: Position paper by the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia* 63, 1398–1442. <https://doi.org/10.1111/epi.17241>

Speed, D., O'Brien, T.J., Palotie, A., Shkura, K., Marson, A.G., Balding, D.J., Johnson, M.R., 2014. Describing the genetic architecture of epilepsy through heritability analysis. *Brain* 137, 2680–2689. <https://doi.org/10.1093/brain/awu206>

Spencer, S., Huh, L., 2008. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neurol* 7, 525–537. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70109-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70109-1)

Spooner, C.G., Berkovic, S.F., Mitchell, L.A., Wrennall, J.A., Harvey, A.S., 2006. New-onset temporal lobe epilepsy in children: lesion on MRI predicts poor seizure outcome. *Neurology* 67, 2147–2153. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000248189.93630.4f>

Sridharan, R., Murthy, B.N., 1999. Prevalence and pattern of epilepsy in India. *Epilepsia* 40, 631–636. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb05566.x>

Srivastava, S., Cohen, J.S., Vernon, H., Barañano, K., McClellan, R., Jamal, L., Naidu, S., Fatemi, A., 2014. Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. *Annals of Neurology* 76, 473–483. <https://doi.org/10.1002/ana.24251>

Stankiewicz, P., Lupski, J.R., 2002. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet* 18, 74–82. [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(02\)02592-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(02)02592-1)

Steering Committee on Quality Improvement and Management, Subcommittee on Febrile Seizures American Academy of Pediatrics, 2008. Febrile seizures: clinical practice guideline for the long-term management of the child with simple febrile seizures. *Pediatrics* 121, 1281–1286. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0939>

Stefanski, A., Calle-López, Y., Leu, C., Pérez-Palma, E., Pestana-Knight, E., Lal, D., 2021. Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 62, 143–151. <https://doi.org/10.1111/epi.16755>

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. *Nat Genet* 11, 201–203. <https://doi.org/10.1038/ng1095-201>

Stevelling, R., Sanders, M.W., Tuinman, M.P., Brilstra, E.H., Koeleman, B.P., Jansen, F.E., Braun, K.P., 2018. Epilepsy surgery for patients with genetic refractory epilepsy: a systematic review. *Epileptic Disord* 20, 99–115. <https://doi.org/10.1684/epd.2018.0959>

Strehlow, V., Heyne, H.O., Vlaskamp, D.R.M., Marwick, K.F.M., Rudolf, G., de Bellescize, J., Biskup, S., Brilstra, E.H., Brouwer, O.F., Callenbach, P.M.C., Hentschel, J., Hirsch, E., Kind, P.C.,

Mignot, C., Platzer, K., Rump, P., Skehel, P.A., Wyllie, D.J.A., Hardingham, G.E., van Ravenswaaij-Arts, C.M.A., Lesca, G., Lemke, J.R., GRIN2A study group, 2019. GRIN2A-related disorders: genotype and functional consequence predict phenotype. *Brain* 142, 80–92. <https://doi.org/10.1093/brain/awy304>

Striano, P., Gambardella, A., Coppola, A., Di Bonaventura, C., Bovo, G., Diani, E., Boaretto, F., Egeo, G., Ciampa, C., Labate, A., Testoni, S., Passarelli, D., Manna, I., Sferro, C., Aguglia, U., Caranci, F., Giallonardo, A.T., Striano, S., Nobile, C., Michelucci, R., 2008. Familial mesial temporal lobe epilepsy (FMTLE): a clinical and genetic study of 15 Italian families. *J Neurol* 255, 16–23. <https://doi.org/10.1007/s00415-007-0653-1>

Striano, P., Serioli, E., Santulli, L., Manna, I., Labate, A., Dazzo, E., Pasini, E., Gambardella, A., Michelucci, R., Striano, S., Nobile, C., 2015. DEPDC5 mutations are not a frequent cause of familial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 56, e168–e171. <https://doi.org/10.1111/epi.13094>

Strömberg, J., Haage, D., Taube, M., Bäckström, T., Lundgren, P., 2006. Neurosteroid modulation of allopregnanolone and GABA effect on the GABA-A receptor. *Neuroscience* 143, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.07.031>

Sugawara, T., Tsurubuchi, Y., Fujiwara, T., Mazaki-Miyazaki, E., Nagata, K., Montal, M., Inoue, Y., Yamakawa, K., 2003. Nav1.1 channels with mutations of severe myoclonic epilepsy in infancy display attenuated currents. *Epilepsy Res* 54, 201–207. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(03\)00084-6](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(03)00084-6)

Sullivan, J., Gunning, B., Zafar, M., Guerrini, R., Gecz, J., Kolc, K.L., Zhao, Y., Gasior, M., Aimetti, A.A., Samanta, D., 2023. Phase 2, placebo-controlled clinical study of oral ganaxolone in PCDH19-clustering epilepsy. *Epilepsy Research* 191, 107112. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2023.107112>

Suls, A., Claeys, K.G., Goossens, D., Harding, B., Van Luijk, R., Scheers, S., Deprez, L., Audenaert, D., Van Dyck, T., Beeckmans, S., Smouts, I., Ceulemans, B., Lagae, L., Buyse, G., Barisic, N., Misson, J.-P., Wauters, J., Del-Favero, J., De Jonghe, P., Claes, L.R.F., 2006. Microdeletions involving the SCN1A gene may be common in SCN1A-mutation-negative SMEI patients. *Hum Mutat* 27, 914–920. <https://doi.org/10.1002/humu.20350>

Sun, Y., Vestergaard, M., Pedersen, C.B., Christensen, J., Olsen, J., 2006. Apgar scores and long-term risk of epilepsy. *Epidemiology* 17, 296–301. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000208478.47401.b6>

Süße, M., Hamann, L., Flöel, A., von Podewils, F., 2019. Nonlesional late-onset epilepsy: Semiology, EEG, cerebrospinal fluid, and seizure outcome characteristics. *Epilepsy Behav* 91, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.05.043>

Swanger, S.A., Chen, W., Wells, G., Burger, P.B., Tankovic, A., Bhattacharya, S., Strong, K.L., Hu, C., Kusumoto, H., Zhang, J., Adams, D.R., Millichap, J.J., Petrovski, S., Traynelis, S.F., Yuan, H., 2016. Mechanistic Insight into NMDA Receptor Dysregulation by Rare Variants in the GluN2A and GluN2B Agonist Binding Domains. *Am J Hum Genet* 99, 1261–1280. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.10.002>

Symonds, J.D., Elliott, K.S., Shetty, J., Armstrong, M., Brunklaus, A., Cutcutache, I., Diver, L.A., Dorris, L., Gardiner, S., Jollands, A., Joss, S., Kirkpatrick, M., McLellan, A., MacLeod, S., O'Regan, M., Page, M., Pilley, E., Pilz, D.T., Stephen, E., Stewart, K., Ashrafian, H., Knight, J.C., Zuberi, S.M., 2021. Early childhood epilepsies: epidemiology, classification, aetiology, and socio-economic determinants. *Brain* 144, 2879–2891. <https://doi.org/10.1093/brain/awab162>

Syrbe, S., Hedrich, U.B.S., Riesch, E., Djémié, T., Müller, S., Møller, R.S., Maher, B., Hernandez-Hernandez, L., Synofzik, M., Caglayan, H.S., Arslan, M., Serratosa, J.M., Nothnagel, M., May, P., Krause, R., Löffler, H., Detert, K., Dorn, T., Vogt, H., Krämer, G., Schöls, L., Mullis, P.E., Linnankivi, T., Lehesjoki, A.-E., Sterbova, K., Craiu, D.C., Hoffman-Zacharska, D., Korff, C.M., Weber, Y.G., Steinlin, M., Gallati, S., Bertsche, A., Bernhard, M.K., Merckenschlager, A., Kiess, W., EuroEPINOMICS RES consortium, Gonzalez, M., Züchner, S., Palotie, A., Suls, A., De Jonghe, P., Helbig, I., Biskup, S., Wolff, M., Maljevic, S., Schüle, R., Sisodiya, S.M., Weckhuysen, S., Lerche, H., Lemke, J.R., 2015. De novo loss- or gain-of-function mutations in KCNA2 cause epileptic encephalopathy. *Nat Genet* 47, 393–399. <https://doi.org/10.1038/ng.3239>

Syvvertsen, M., Nakken, K.O., Edland, A., Hansen, G., Hellum, M.K., Koht, J., 2015. Prevalence and etiology of epilepsy in a Norwegian county-A population based study. *Epilepsia* 56, 699–706. <https://doi.org/10.1111/epi.12972>

Szepetowski, P., Rochette, J., Berquin, P., Piussan, C., Lathrop, G.M., Monaco, A.P., 1997. Familial infantile convulsions and paroxysmal choreoathetosis: a new neurological syndrome linked to the pericentromeric region of human chromosome 16. *Am J Hum Genet* 61, 889–898. <https://doi.org/10.1086/514877>

Talos, D.M., Kwiatkowski, D.J., Cordero, K., Black, P.M., Jensen, F.E., 2008. Cell-specific alterations of glutamate receptor expression in tuberous sclerosis complex cortical tubers. *Ann Neurol* 63, 454–465. <https://doi.org/10.1002/ana.21342>

Tan, C., Shard, C., Ranieri, E., Hynes, K., Pham, D.H., Leach, D., Buchanan, G., Corbett, M., Shoubridge, C., Kumar, R., Douglas, E., Nguyen, L.S., McMahon, J., Sadleir, L., Specchio, N., Marini, C., Guerrini, R., Moller, R.S., Depienne, C., Haan, E., Thomas, P.Q., Berkovic, S.F., Scheffer, I.E., Gecz, J., 2015. Mutations of protocadherin 19 in female epilepsy (PCDH19-FE) lead to allopregnanolone deficiency. *Hum Mol Genet* 24, 5250–5259. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv245>

Tan, H.O., Reid, C.A., Single, F.N., Davies, P.J., Chiu, C., Murphy, S., Clarke, A.L., Dibbens, L., Krestel, H., Mulley, J.C., Jones, M.V., Seeburg, P.H., Sakmann, B., Berkovic, S.F., Sprengel, R., Petrou, S., 2007. Reduced cortical inhibition in a mouse model of familial childhood absence epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 17536–17541. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708440104>

Tarpey, P.S., Smith, R., Pleasance, E., Whibley, A., Edkins, S., Hardy, C., O’Meara, S., Latimer, C., Dicks, E., Menzies, A., Stephens, P., Blow, M., Greenman, C., Xue, Y., Tyler-Smith, C., Thompson, D., Gray, K., Andrews, J., Barthorpe, S., Buck, G., Cole, J., Dunmore, R., Jones, D., Maddison, M., Mironenko, T., Turner, R., Turrell, K., Varian, J., West, S., Widaa, S., Wray, P., Teague, J., Butler, A., Jenkinson, A., Jia, M., Richardson, D., Shepherd, R., Wooster, R., Tejada, M.I., Martinez, F., Carvill, G., Goliath, R., de Brouwer, A.P.M., van Bokhoven, H., Van Esch, H., Chelly, J., Raynaud, M., Ropers, H.-H., Abidi, F.E., Srivastava, A.K., Cox, J., Luo, Y., Mallya, U., Moon, J., Parnau, J., Mohammed, S., Tolmie, J.L., Shoubridge, C., Corbett, M., Gardner, A., Haan, E., Rujirabanjerd, S., Shaw, M., Vandeleur, L., Fullston, T., Easton, D.F., Boyle, J., Partington, M., Hackett, A., Field, M., Skinner, C., Stevenson, R.E., Bobrow, M., Turner, G., Schwartz, C.E., Gecz, J., Raymond, F.L., Futreal, P.A., Stratton, M.R., 2009. A systematic, large-scale resequencing screen of X-chromosome coding exons in mental retardation. *Nat Genet* 41, 535–543. <https://doi.org/10.1038/ng.367>

Thapaliya, B., Calhoun, V.D., Liu, J., 2021. Environmental and genome-wide association study on children anxiety and depression, in: 2021 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM). Presented at the 2021 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), pp. 2330–2337. <https://doi.org/10.1109/BIBM52615.2021.9669291>

Third degree relative, n.d. . Genomics Education Programme. URL <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk/glossary/third-degree-relative/> (accessed 3.16.23).

Thomas, R.H., Berkovic, S.F., 2014. The hidden genetics of epilepsy-a clinically important new paradigm. *Nat Rev Neurol* 10, 283–292. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.62>

Tiefes, A.M., Hartlieb, T., Tacke, M., von Stülpnagel-Steinbeis, C., Larsen, L.H.G., Hao, Q., Dahl, H.A., Neubauer, B.A., Gerstl, L., Kudernatsch, M., Kluger, G.J., Borggraefe, I., 2019. Mesial Temporal Sclerosis in SCN1A-Related Epilepsy: Two Long-Term EEG Case Studies. *Clin EEG Neurosci* 50, 267–272. <https://doi.org/10.1177/1550059418794347>

Tinuper, P., Bisulli, F., Cross, J.H., Hesdorffer, D., Kahane, P., Nobili, L., Provini, F., Scheffer, I.E., Tassi, L., Vignatelli, L., Bassetti, C., Cirignotta, F., Derry, C., Gambardella, A., Guerrini, R., Halasz, P., Licchetta, L., Mahowald, M., Manni, R., Marini, C., Mostacci, B., Naldi, I., Parrino, L., Picard, F., Pugliatti, M., Ryvlin, P., Vigeveno, F., Zucconi, M., Berkovic, S., Ottman, R., 2016. Definition and diagnostic criteria of sleep-related hypermotor epilepsy. *Neurology* 86, 1834–1842. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002666>

Tomson, T., Walczak, T., Sillanpaa, M., Sander, J.W.A.S., 2005. Sudden unexpected death in epilepsy: a review of incidence and risk factors. *Epilepsia* 46 Suppl 11, 54–61. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00411.x>

Tornaletti, S., Pfeifer, G.P., 1994. Slow repair of pyrimidine dimers at p53 mutation hotspots in skin cancer. *Science* 263, 1436–1438. <https://doi.org/10.1126/science.8128225>

Touraine, R., Hauet, Q., Harzallah, I., Baruteau, A.-E., 2022. Tuberous Sclerosis Complex: Genetic counselling and perinatal follow-up. *Arch Pediatr* 29, 5S3-5S7. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(22\)00283-4](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(22)00283-4)

Traynelis, S.F., Wollmuth, L.P., McBain, C.J., Menniti, F.S., Vance, K.M., Ogden, K.K., Hansen, K.B., Yuan, H., Myers, S.J., Dingledine, R., 2010. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev* 62, 405–496. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>

Trivisano, M., Lucchi, C., Rustichelli, C., Terracciano, A., Cusmai, R., Ubertini, G.M., Giannone, G., Bertini, E.S., Vigeveno, F., Gecz, J., Biagini, G., Specchio, N., 2017. Reduced steroidogenesis in patients with PCDH19-female limited epilepsy. *Epilepsia* 58, e91–e95. <https://doi.org/10.1111/epi.13772>

Trivisano, M., Pietrafusa, N., Terracciano, A., Marini, C., Mei, D., Darra, F., Accorsi, P., Battaglia, D., Caffi, L., Canevini, M.P., Cappelletti, S., Cesaroni, E., de Palma, L., Costa, P., Cusmai, R., Giordano, L., Ferrari, A., Freri, E., Fusco, L., Granata, T., Martino, T., Mastrangelo, M., Bova, S.M., Parmeggiani, L., Ragona, F., Sicca, F., Striano, P., Specchio, L.M., Tondo, I., Zambrelli, E., Zamponi, N., Zanus, C., Boniver, C., Vecchi, M., Avolio, C., Dalla Bernardina, B., Bertini, E., Guerrini, R., Vigeveno, F., Specchio, N., 2018. Defining the electroclinical phenotype and outcome of PCDH19-related epilepsy: A multicenter study. *Epilepsia* 59, 2260–2271. <https://doi.org/10.1111/epi.14600>

Trivisano, M., Specchio, N., Vigeveno, F., 2015a. Extending the use of stiripentol to other epileptic syndromes: A case of PCDH19-related epilepsy. *European Journal of Paediatric Neurology* 19, 248–250. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2014.11.008>

Trivisano, M., Terracciano, A., Milano, T., Cappelletti, S., Pietrafusa, N., Bertini, E.S., Vigeveno, F., Specchio, N., 2015b. Mutation of CHRNA2 in a family with benign familial infantile

seizures: Potential role of nicotinic acetylcholine receptor in various phenotypes of epilepsy. *Epilepsia* 56, e53-57. <https://doi.org/10.1111/epi.12967>

Tsai, M.-H., Chan, C.-K., Chang, Y.-C., Lin, C.-H., Liou, C.-W., Chang, W.-N., Ng, C.-C., Lim, K.-S., Hwang, D.-Y., 2018. Molecular Genetic Characterization of Patients With Focal Epilepsy Using a Customized Targeted Resequencing Gene Panel. *Front Neurol* 9, 515. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00515>

Tsai, M.-H., Pardoe, H.R., Perchyonok, Y., Fitt, G.J., Scheffer, I.E., Jackson, G.D., Berkovic, S.F., 2013. Etiology of hippocampal sclerosis: evidence for a predisposing familial morphologic anomaly. *Neurology* 81, 144–149. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31829a33ac>

Tsang, M.H.-Y., Leung, G.K.-C., Ho, A.C.-C., Yeung, K.-S., Mak, C.C.-Y., Pei, S.L.-C., Yu, M.H.-C., Kan, A.S.-Y., Chan, K.Y.-K., Kwong, K.L., Lee, S.-L., Yung, A.W.-Y., Fung, C.-W., Chung, B.H.-Y., 2019. Exome sequencing identifies molecular diagnosis in children with drug-resistant epilepsy. *Epilepsia Open* 4, 63–72. <https://doi.org/10.1002/epi4.12282>

Turner, S.J., Mayes, A.K., Verhoeven, A., Mandelstam, S.A., Morgan, A.T., Scheffer, I.E., 2015a. GRIN2A: An aptly named gene for speech dysfunction. *Neurology* 84, 586–593. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001228>

Turner, S.J., Morgan, A.T., Perez, E.R., Scheffer, I.E., 2015b. New genes for focal epilepsies with speech and language disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 15, 35. <https://doi.org/10.1007/s11910-015-0554-0>

Urbach, H., Mast, H., Egger, K., Mader, I., 2015. Presurgical MR Imaging in Epilepsy. *Clin Neuroradiol* 25 Suppl 2, 151–155. <https://doi.org/10.1007/s00062-015-0387-x>

Vacher, H., Mohapatra, D.P., Trimmer, J.S., 2008. Localization and targeting of voltage-dependent ion channels in mammalian central neurons. *Physiol Rev* 88, 1407–1447. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2008>

Vadlamudi, L., Milne, R.L., Lawrence, K., Heron, S.E., Eckhaus, J., Keay, D., Connellan, M., Torn-Broers, Y., Howell, R.A., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Dibbens, L.M., Hopper, J.L., Berkovic, S.F., 2014. Genetics of epilepsy: The testimony of twins in the molecular era. *Neurology* 83, 1042–1048. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000790>

Valeeva, G., Valiullina, F., Khazipov, R., 2013. Excitatory actions of GABA in the intact neonatal rodent hippocampus in vitro. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7.

van Harsseel, J.J.T., Weckhuysen, S., van Kempen, M.J.A., Hardies, K., Verbeek, N.E., de Kovel, C.G.F., Gunning, W.B., van Daalen, E., de Jonge, M.V., Jansen, A.C., Vermeulen, R.J., Arts, W.F.M., Verhelst, H., Fogarasi, A., de Rijk-van Andel, J.F., Kelemen, A., Lindhout, D., De Jonghe, P., Koeleman, B.P.C., Suls, A., Brilstra, E.H., 2013. Clinical and genetic aspects of PCDH19-related epilepsy syndromes and the possible role of PCDH19 mutations in males with autism spectrum disorders. *Neurogenetics* 14, 23–34. <https://doi.org/10.1007/s10048-013-0353-1>

van Karnebeek, C.D.M., Tiebout, S.A., Niermeijer, J., Poll-The, B.T., Ghani, A., Coughlin, C.R., Van Hove, J.L.K., Richter, J.W., Christen, H.J., Gallagher, R., Hartmann, H., Stockler-Ipsiroglu, S., 2016. Pyridoxine-Dependent Epilepsy: An Expanding Clinical Spectrum. *Pediatric Neurology* 59, 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2015.12.013>

- van Kranenburg, M., Hoogeveen-Westerveld, M., Nellist, M., 2015. Preliminary functional assessment and classification of DEPDC5 variants associated with focal epilepsy. *Hum Mutat* 36, 200–209. <https://doi.org/10.1002/humu.22723>
- Van Poppel, K., Patay, Z., Roberts, D., Clarke, D.F., McGregor, A., Perkins, F.F., Wheless, J.W., 2012. Mesial Temporal Sclerosis in a Cohort of Children With SCN1A Gene Mutation. *J Child Neurol* 27, 893–897. <https://doi.org/10.1177/0883073811435325>
- Vanhalst, K., Kools, P., Staes, K., van Roy, F., Redies, C., 2005. delta-Protocadherins: a gene family expressed differentially in the mouse brain. *Cell Mol Life Sci* 62, 1247–1259. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5021-7>
- Vari, M.S., Traverso, M., Bellini, T., Madia, F., Pinto, F., Minetti, C., Striano, P., Zara, F., 2017. De novo 12q22.q23.3 duplication associated with temporal lobe epilepsy. *Seizure - European Journal of Epilepsy* 50, 80–82. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2017.06.011>
- Vasilica, A.-M., Winsor, A., Chari, A., Scott, R., Baldeweg, T., Tisdall, M., 2023. The influence of disease course and surgery on quality of life in children with focal cortical dysplasia and long-term epilepsy-associated tumours: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsy Res* 192, 107132. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2023.107132>
- Vawter-Lee, M., Franz, D.N., Fuller, C.E., Greiner, H.M., 2019. Clinical Letter: A case report of targeted therapy with sirolimus for NPRL3 epilepsy. *Seizure* 73, 43–45. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2019.10.007>
- Veitia, R.A., Caburet, S., Birchler, J.A., 2018. Mechanisms of Mendelian dominance. *Clin Genet* 93, 419–428. <https://doi.org/10.1111/cge.13107>
- Verity, C.M., Butler, N.R., Golding, J., 1985. Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth. I--Prevalence and recurrence in the first five years of life. *Br Med J (Clin Res Ed)* 290, 1307–1310. <https://doi.org/10.1136/bmj.290.6478.1307>
- Verma, P., Kienle, A., Flockerzi, D., Ramkrishna, D., 2019. Using Bifurcation Theory for Exploring Pain. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b04495>
- Vestergaard, M., Pedersen, C.B., Sidenius, P., Olsen, J., Christensen, J., 2007. The long-term risk of epilepsy after febrile seizures in susceptible subgroups. *Am J Epidemiol* 165, 911–918. <https://doi.org/10.1093/aje/kwk086>
- Vezyroglou, A., Varadkar, S., Bast, T., Hirsch, E., Strobl, K., Harvey, A.S., Epilepsy Surgery in SCN1A Study Group, Scheffer, I.E., Sisodiya, S.M., Cross, J.H., 2020. Focal epilepsy in SCN1A-mutation carrying patients: is there a role for epilepsy surgery? *Dev Med Child Neurol* 62, 1331–1335. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14588>
- Vigevano, F., 2005. Benign familial infantile seizures. *Brain Dev* 27, 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2003.12.012>
- Vignatelli, L., Bisulli, F., Giovannini, G., Licchetta, L., Naldi, I., Mostacci, B., Rubboli, G., Provini, F., Tinuper, P., Meletti, S., 2015. Prevalence of nocturnal frontal lobe epilepsy in the adult population of Bologna and Modena, Emilia-Romagna region, Italy. *Sleep* 38, 479–485. <https://doi.org/10.5665/sleep.4514>

Vojvodić, N.M., 2014. Mehanizmi patogeneze temporalne epilepsije, in: *Epilepsija Temporalnog Režnja*. Zavod za udžbenike, Beograd, pp. 41–58.

Vojvodić, N.M., 2012. Analiza karakteristika periiktalnih vegetativnih znakova za lokalizaciju epileptogene zone kod epilepsija temporalnog režnja. Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.

von der Brélie, C., Malter, M.P., Niehusmann, P., Elger, C.E., von Lehe, M., Schramm, J., 2013. Surgical management and long-term seizure outcome after epilepsy surgery for different types of epilepsy associated with cerebral cavernous malformations. *Epilepsia* 54, 1699–1706. <https://doi.org/10.1111/epi.12327>

von Stülpnagel, C., Ensslen, M., Møller, R.S., Pal, D.K., Masnada, S., Veggiotti, P., Piazza, E., Dreesmann, M., Hartlieb, T., Herberhold, T., Hughes, E., Koch, M., Kutzer, C., Hoertnagel, K., Nitanda, J., Pohl, M., Rostásy, K., Haack, T.B., Stöhr, K., Kluger, G., Borggraefe, I., 2017. Epilepsy in patients with GRIN2A alterations: Genetics, neurodevelopment, epileptic phenotype and response to anticonvulsive drugs. *European Journal of Paediatric Neurology* 21, 530–541. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2017.01.001>

Vyas, P., Vickers, M.A., Picketts, D.J., Higgs, D.R., 1995. Conservation of position and sequence of a novel, widely expressed gene containing the major human alpha-globin regulatory element. *Genomics* 29, 679–689. <https://doi.org/10.1006/geno.1995.9951>

Vyklicky, V., Korinek, M., Smejkalova, T., Balik, A., Krausova, B., Kaniakova, M., Lichnerova, K., Cerny, J., Krusek, J., Dittert, I., Horak, M., Vyklicky, L., 2014. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiol Res* 63, S191–203. <https://doi.org/10.33549/physiolres.932678>

Wagstyl, K., Whitaker, K., Raznahan, A., Seidlitz, J., Vértes, P.E., Foldes, S., Humphreys, Z., Hu, W., Mo, J., Likeman, M., Davies, S., Lenge, M., Cohen, N.T., Tang, Y., Wang, S., Ripart, M., Chari, A., Tisdall, M., Bargallo, N., Conde-Blanco, E., Pariente, J.C., Pascual-Diaz, S., Delgado-Martínez, I., Pérez-Enríquez, C., Lagorio, I., Abela, E., Mullatti, N., O’Muircheartaigh, J., Vecchiato, K., Liu, Y., Caligiuri, M., Sinclair, B., Vivash, L., Willard, A., Kandasamy, J., McLellan, A., Sokol, D., Semmelroch, M., Kloster, A., Opheim, G., Yasuda, C., Zhang, K., Hamandi, K., Barba, C., Guerrini, R., Gaillard, W.D., You, X., Wang, I., González-Ortiz, S., Severino, M., Striano, P., Tortora, D., Kalviainen, R., Gambardella, A., Labate, A., Desmond, P., Lui, E., O’Brien, T., Shetty, J., Jackson, G., Duncan, J.S., Winston, G.P., Pinborg, L., Cendes, F., Cross, J.H., Baldeweg, T., Adler, S., 2022. Atlas of lesion locations and postsurgical seizure freedom in focal cortical dysplasia: A MELD study. *Epilepsia* 63, 61–74. <https://doi.org/10.1111/epi.17130>

Wakamoto, H., Hayashi, M., Nagao, H., Morimoto, T., Kida, K., 2004. Clinical investigation of genetic contributions to childhood-onset epilepsies and epileptic syndromes. *Brain Dev* 26, 184–189. [https://doi.org/10.1016/S0387-7604\(03\)00124-4](https://doi.org/10.1016/S0387-7604(03)00124-4)

Walczak, T.S., Leppik, I.E., D’Amelio, M., Rarick, J., So, E., Ahman, P., Ruggles, K., Cascino, G.D., Annegers, J.F., Hauser, W.A., 2001. Incidence and risk factors in sudden unexpected death in epilepsy: a prospective cohort study. *Neurology* 56, 519–525. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.4.519>

Walker, M.C., 2015. Hippocampal Sclerosis: Causes and Prevention. *Semin Neurol* 35, 193–200. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1552618>

Wallace, R.H., Wang, D.W., Singh, R., Scheffer, I.E., George, A.L., Phillips, H.A., Saar, K., Reis, A., Johnson, E.W., Sutherland, G.R., Berkovic, S.F., Mulley, J.C., 1998. Febrile seizures and

generalized epilepsy associated with a mutation in the Na<sup>+</sup>-channel beta1 subunit gene SCN1B. *Nat Genet* 19, 366–370. <https://doi.org/10.1038/1252>

Wang, D., Li, X., Jia, S., Wang, Y., Wang, Z., Song, X., Liu, L., 2015. Copy number variants associated with epilepsy from gene expression microarrays. *J Clin Neurosci* 22, 1907–1910. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.05.033>

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. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.11.030>

Wang, Jun, Wang, W., Li, R., Li, Y., Tian, G., Goodman, L., Fan, W., Zhang, Junqing, Li, J., Zhang, Juanbin, Guo, Y., Feng, B., Li, H., Lu, Y., Fang, X., Liang, H., Du, Z., Li, Dong, Zhao, Y., Hu, Y., Yang, Zhenzhen, Zheng, Hancheng, Hellmann, I., Inouye, M., Pool, J., Yi, X., Zhao, J., Duan, J., Zhou, Y., Qin, J., Ma, L., Li, G., Yang, Zhentao, Zhang, G., Yang, B., Yu, C., Liang, F., Li, W., Li, Shaochuan, Li, Dawei, Ni, P., Ruan, J., Li, Q., Zhu, H., Liu, D., Lu, Z., Li, N., Guo, G., Zhang, Jianguo, Ye, J., Fang, L., Hao, Q., Chen, Q., Liang, Y., Su, Y., San, A., Ping, C., Yang, S., Chen, F., Li, L., Zhou, K., Zheng, Hongkun, Ren, Y., Yang, L., Gao, Y., Yang, G., Li, Z., Feng, X., Kristiansen, K., Wong, G.K.-S., Nielsen, R., Durbin, R., Bolund, L., Zhang, X., Li, Songgang, Yang, H., Wang, Jian, 2008. The diploid genome sequence of an Asian individual. *Nature* 456, 60–65. <https://doi.org/10.1038/nature07484>

Wang, J.X., Furukawa, H., 2019. Dissecting diverse functions of NMDA receptors by structural biology. *Curr Opin Struct Biol* 54, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.12.009>

Wang, Piao, Y.-S., Blumcke, I., Coras, R., Zhou, W.-J., Gui, Q.-P., Liu, C.-C., Hu, J.-X., Cao, L.-Z., Zhang, G.-J., Lu, D.-H., 2017. A distinct clinicopathological variant of focal cortical dysplasia III<sub>d</sub> characterized by loss of layer 4 in the occipital lobe in 12 children with remote hypoxic-ischemic injury. *Epilepsia* 58, 1697–1705. <https://doi.org/10.1111/epi.13855>

Wang, X., Han, P., Wang, Q., Xie, C., Chen, J., 2023. Efficiency of surgery on posttraumatic epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurosurg Rev* 46, 91. <https://doi.org/10.1007/s10143-023-01997-3>

Wang, Z.I., Alexopoulos, A.V., Jones, S.E., Jaisani, Z., Najm, I.M., Prayson, R.A., 2013. The pathology of magnetic-resonance-imaging-negative epilepsy. *Mod. Pathol.* 26, 1051–1058. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.52>

Weber, Y.G., Biskup, S., Helbig, K.L., Von Spiczak, S., Lerche, H., 2017. The role of genetic testing in epilepsy diagnosis and management. *Expert Rev Mol Diagn* 17, 739–750. <https://doi.org/10.1080/14737159.2017.1335598>

Weckhuysen, S., Korff, C.M., 2014. Epilepsy: old syndromes, new genes. *Curr Neurol Neurosci Rep* 14, 447. <https://doi.org/10.1007/s11910-014-0447-7>

Weckhuysen, S., Marsan, E., Lambrecq, V., Marchal, C., Morin-Brureau, M., An-Gourfinkel, I., Baulac, M., Fohlen, M., Kallay Zetchi, C., Seeck, M., de la Grange, P., Dermaut, B., Meurs, A., Thomas, P., Chassoux, F., Leguern, E., Picard, F., Baulac, S., 2016. Involvement of GATOR complex genes in familial focal epilepsies and focal cortical dysplasia. *Epilepsia* 57, 994–1003. <https://doi.org/10.1111/epi.13391>

Weiss, L.A., Escayg, A., Kearney, J.A., Trudeau, M., MacDonald, B.T., Mori, M., Reichert, J., Buxbaum, J.D., Meisler, M.H., 2003. Sodium channels SCN1A, SCN2A and SCN3A in familial autism. *Mol Psychiatry* 8, 186–194. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001241>



Wellmer, J., Quesada, C.M., Rothe, L., Elger, C.E., Bien, C.G., Urbach, H., 2013. Proposal for a magnetic resonance imaging protocol for the detection of epileptogenic lesions at early outpatient stages. *Epilepsia* 54, 1977–1987. <https://doi.org/10.1111/epi.12375>

Weston, M.C., Chen, H., Swann, J.W., 2012. Multiple roles for mammalian target of rapamycin signaling in both glutamatergic and GABA-ergic synaptic transmission. *J Neurosci* 32, 11441–11452. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1283-12.2012>

Wieser, H.G., Blume, W.T., Fish, D., Goldensohn, E., Hufnagel, A., King, D., Sperling, M.R., Lüders, H., Pedley, T.A., Commission on Neurosurgery of the International League Against Epilepsy (ILAE), 2001. ILAE Commission Report. Proposal for a new classification of outcome with respect to epileptic seizures following epilepsy surgery. *Epilepsia* 42, 282–286.

Wieshmann, U.C., 2003. Clinical application of neuroimaging in epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74, 466–470. <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.4.466>

Wilmschurst, J.M., Gaillard, W.D., Vinayan, K.P., Tsuchida, T.N., Plouin, P., Van Bogaert, P., Carrizosa, J., Elia, M., Craiu, D., Jovic, N.J., Nordli, D., Hirtz, D., Wong, V., Glauser, T., Mizrahi, E.M., Cross, J.H., 2015. Summary of recommendations for the management of infantile seizures: Task Force Report for the ILAE Commission of Pediatrics. *Epilepsia* 56, 1185–1197. <https://doi.org/10.1111/epi.13057>

Wimmer, V.C., Reid, C.A., Mitchell, S., Richards, K.L., Scaf, B.B., Leaw, B.T., Hill, E.L., Royeck, M., Horstmann, M.-T., Cromer, B.A., Davies, P.J., Xu, R., Lerche, H., Berkovic, S.F., Beck, H., Petrou, S., 2010. Axon initial segment dysfunction in a mouse model of genetic epilepsy with febrile seizures plus. *J Clin Invest* 120, 2661–2671. <https://doi.org/10.1172/JCI42219>

Winawer, M.R., 2006. Phenotype definition in epilepsy. *Epilepsy Behav* 8, 462–476. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2006.01.012>

Winawer, M.R., Ottman, R., Hauser, W.A., Pedley, T.A., 2000. Autosomal dominant partial epilepsy with auditory features: defining the phenotype. *Neurology* 54, 2173–2176. <https://doi.org/10.1212/wnl.54.11.2173>

Winawer, M.R., Rabinowitz, D., Barker-Cummings, C., Scheuer, M.L., Pedley, T.A., Hauser, W.A., Ottman, R., 2003. Evidence for distinct genetic influences on generalized and localization-related epilepsy. *Epilepsia* 44, 1176–1182. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.58902.x>

Woermann, F.G., Vollmar, C., 2009. Clinical MRI in children and adults with focal epilepsy: a critical review. *Epilepsy Behav* 15, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.02.032>

Wolff, M., Johannesen, K.M., Hedrich, U.B.S., Masnada, S., Rubboli, G., Gardella, E., Lesca, G., Ville, D., Milh, M., Villard, L., Afenjar, A., Chantot-Bastaraud, S., Mignot, C., Lardennois, C., Nava, C., Schwarz, N., Gérard, M., Perrin, L., Doummar, D., Auvin, S., Miranda, M.J., Hempel, M., Brilstra, E., Knoers, N., Verbeek, N., van Kempen, M., Braun, K.P., Mancini, G., Biskup, S., Hörtnagel, K., Döcker, M., Bast, T., Loddenkemper, T., Wong-Kissel, L., Baumeister, F.M., Fazeli, W., Striano, P., Dilena, R., Fontana, E., Zara, F., Kurlemann, G., Klepper, J., Thoene, J.G., Arndt, D.H., Deconinck, N., Schmitt-Mechelke, T., Maier, O., Muhle, H., Wical, B., Finetti, C., Brückner, R., Pietz, J., Golla, G., Jillella, D., Linnet, K.M., Charles, P., Moog, U., Öiglanc-Shlik, E., Mantovani, J.F., Park, K., Deprez, M., Lederer, D., Mary, S., Scalais, E., Selim, L., Van Coster, R., Lagae, L., Nikanorova, M., Hjalgrim, H., Korenke, G.C., Trivisano, M., Specchio, N., Ceulemans, B., Dorn, T., Helbig, K.L., Hardies, K., Stamberger, H., de Jonghe, P., Weckhuysen, S., Lemke, J.R., Krägeloh-Mann, I., Helbig, I., Kluger, G.,

- Lerche, H., Møller, R.S., 2017. Genetic and phenotypic heterogeneity suggest therapeutic implications in SCN2A-related disorders. *Brain* 140, 1316–1336. <https://doi.org/10.1093/brain/awx054>
- Wolking, S., Moreau, C., McCormack, M., Krause, R., Krenn, M., EpiPGx Consortium, Berkovic, S., Cavalleri, G.L., Delanty, N., Depondt, C., Johnson, M.R., Koeleman, B.P.C., Kunz, W.S., Lerche, H., Marson, A.G., O'Brien, T.J., Petrovski, S., Sander, J.W., Sills, G.J., Striano, P., Zara, F., Zimprich, F., Sisodiya, S.M., Girard, S.L., Cossette, P., 2021. Assessing the role of rare genetic variants in drug-resistant, non-lesional focal epilepsy. *Ann Clin Transl Neurol* 8, 1376–1387. <https://doi.org/10.1002/acn3.51374>
- Woodward, K.E., Murthy, P., Mineyko, A., Mohammad, K., Esser, M.J., 2023. Identifying Genetic Susceptibility in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Retrospective Case Series. *J Child Neurol* 38, 16–24. <https://doi.org/10.1177/08830738221147805>
- Xenon Pharmaceuticals [WWW Document], 2022. URL <https://www.xenon-pharma.com/product-pipeline/xen496/> (accessed 5.31.22).
- XiangWei, W., Jiang, Y., Yuan, H., 2018. De Novo Mutations and Rare Variants Occurring in NMDA Receptors. *Curr Opin Physiol* 2, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2017.12.013>
- Xiong, W., Tang, L., Lu, L., Zhang, L., Xiao, Y., Zhou, D., 2019. Gap Activity Toward Rags 1 variants in Chinese people with sporadic drug-resistant focal epilepsy. *Acta Neurol Scand* 139, 247–253. <https://doi.org/10.1111/ane.13046>
- Xu, R., Thomas, E.A., Jenkins, M., Gazina, E.V., Chiu, C., Heron, S.E., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Petrou, S., 2007. A childhood epilepsy mutation reveals a role for developmentally regulated splicing of a sodium channel. *Mol Cell Neurosci* 35, 292–301. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.03.003>
- Xu, X., Yang, Xiaoxu, Wu, Q., Liu, A., Yang, Xiaoling, Ye, A.Y., Huang, A.Y., Li, J., Wang, M., Yu, Z., Wang, S., Zhang, Z., Wu, X., Wei, L., Zhang, Y., 2015. Amplicon Resequencing Identified Parental Mosaicism for Approximately 10% of “de novo” SCN1A Mutations in Children with Dravet Syndrome. *Hum Mutat* 36, 861–872. <https://doi.org/10.1002/humu.22819>
- Yaakub, S.N., Barker, G.J., Carr, S.J., Abela, E., Koutroumanidis, M., Elwes, R.D.C., Richardson, M.P., 2019. Abnormal temporal lobe morphology in asymptomatic relatives of patients with hippocampal sclerosis: A replication study. *Epilepsia* 60, e1–e5. <https://doi.org/10.1111/epi.14575>
- Yagi, T., Takeichi, M., 2000. Cadherin superfamily genes: functions, genomic organization, and neurologic diversity. *Genes Dev.* 14, 1169–1180. <https://doi.org/10.1101/gad.14.10.1169>
- Yamagata, A., Miyazaki, Y., Yokoi, N., Shigematsu, H., Sato, Y., Goto-Ito, S., Maeda, A., Goto, T., Sanbo, M., Hirabayashi, M., Shirouzu, M., Fukata, Y., Fukata, M., Fukai, S., 2018. Structural basis of epilepsy-related ligand–receptor complex LGII–ADAM22. *Nat Commun* 9, 1546. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03947-w>
- Yang, L., Liu, J., Su, Q., Li, Y., Yang, X., Xu, L., Tong, L., Li, B., 2019. Novel and de novo mutation of PCDH19 in Girls Clustering Epilepsy. *Brain and Behavior* 9, e01455. <https://doi.org/10.1002/brb3.1455>
- Yang, L., You, C., Qiu, S., Yang, X., Li, Y., Liu, F., Zhang, D., Niu, Y., Xu, L., Xu, N., Li, X., Luo, F., Yang, J., Li, B., 2020. Novel and de novo point and large microdeletion mutation in PRRT2-related epilepsy. *Brain Behav* 10, e01597. <https://doi.org/10.1002/brb3.1597>

Yang, X., Qian, P., Xu, X., Liu, X., Wu, X., Zhang, Y., Yang, Z., 2018. GRIN2A mutations in epilepsy-aphasia spectrum disorders. *Brain Dev* 40, 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2017.09.007>

Yokoi, N., Fukata, Y., Kase, D., Miyazaki, T., Jaegle, M., Ohkawa, T., Takahashi, N., Iwanari, H., Mochizuki, Y., Hamakubo, T., Imoto, K., Meijer, D., Watanabe, M., Fukata, M., 2015. Chemical corrector treatment ameliorates increased seizure susceptibility in a mouse model of familial epilepsy. *Nat Med* 21, 19–26. <https://doi.org/10.1038/nm.3759>

Yonsei University, 2021. A Prospective, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Cross Over Study Investigating the Anti-epileptic Efficacy of Afinitor (Everolimus) in Patients With Refractory Seizures Who Have Focal Cortical Dysplasia Type II (FCD II) (Clinical trial registration No. NCT03198949). [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov).

York, G.K., Steinberg, D.A., 2009. Hughlings Jackson's suggestion for the treatment of epilepsy. *Neurology* 73, 1155–1158. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181bacec7>

Yu, F.H., Mantegazza, M., Westenbroek, R.E., Robbins, C.A., Kalume, F., Burton, K.A., Spain, W.J., McKnight, G.S., Scheuer, T., Catterall, W.A., 2006. Reduced sodium current in GABA-ergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nat Neurosci* 9, 1142–1149. <https://doi.org/10.1038/nn1754>

Yuskaitis, C.J., Jones, B.M., Wolfson, R.L., Super, C.E., Dhamne, S.C., Rotenberg, A., Sabatini, D.M., Sahin, M., Poduri, A., 2018a. A mouse model of DEPDC5-related epilepsy: Neuronal loss of *Depdc5* causes dysplastic and ectopic neurons, increased mTOR signaling, and seizure susceptibility. *Neurobiol Dis* 111, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.12.010>

Yuskaitis, C.J., Ruzhnikov, M.R.Z., Howell, K.B., Allen, I.E., Kapur, K., Dlugos, D.J., Scheffer, I.E., Poduri, A., Sherr, E.H., 2018b. Infantile Spasms of Unknown Cause: Predictors of Outcome and Genotype-Phenotype Correlation. *Pediatr Neurol* 87, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2018.04.012>

Zara, F., Specchio, N., Striano, P., Robbiano, A., Gennaro, E., Paravidino, R., Vanni, N., Beccaria, F., Capovilla, G., Bianchi, A., Caffi, L., Cardilli, V., Darra, F., Bernardina, B.D., Fusco, L., Gaggero, R., Giordano, L., Guerrini, R., Incorpora, G., Mastrangelo, M., Spaccini, L., Laverda, A.M., Vecchi, M., Vanadia, F., Veggiotti, P., Viri, M., Occhi, G., Budetta, M., Tagliatalata, M., Coviello, D.A., Vigeveno, F., Minetti, C., 2013. Genetic testing in benign familial epilepsies of the first year of life: clinical and diagnostic significance. *Epilepsia* 54, 425–436. <https://doi.org/10.1111/epi.12089>

Zarrei, M., MacDonald, J.R., Merico, D., Scherer, S.W., 2015. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet* 16, 172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>

Zarrelli, M.M., Beghi, E., Rocca, W.A., Hauser, W.A., 1999. Incidence of epileptic syndromes in Rochester, Minnesota: 1980-1984. *Epilepsia* 40, 1708–1714. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb01587.x>

Zeng, L.-H., Rensing, N.R., Zhang, B., Gutmann, D.H., Gambello, M.J., Wong, M., 2011. *Tsc2* gene inactivation causes a more severe epilepsy phenotype than *Tsc1* inactivation in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Hum Mol Genet* 20, 445–454. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq491>

Zeng, L.-H., Xu, L., Gutmann, D.H., Wong, M., 2008. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol* 63, 444–453. <https://doi.org/10.1002/ana.21331>

Zhou, L., Wang, K., Xu, Y., Dong, B.-B., Wu, D.-C., Wang, Z.-X., Wang, X.-T., Cai, X.-Y., Yang, J.-T., Zheng, R., Chen, W., Shen, Y., Wei, J.-S., 2023. A patient-derived mutation of epilepsy-linked LGI1 increases seizure susceptibility through regulating Kv1.1. *Cell Biosci* 13, 34. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-00983-y>

Zhou, Y.-D., Lee, S., Jin, Z., Wright, M., Smith, S.E.P., Anderson, M.P., 2009. Arrested maturation of excitatory synapses in autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy. *Nat Med* 15, 1208–1214. <https://doi.org/10.1038/nm.2019>

Zuberi, S.M., Brunklaus, A., Birch, R., Reavey, E., Duncan, J., Forbes, G.H., 2011. Genotype–phenotype associations in SCN1A-related epilepsies. *Neurology* 76, 594–600. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31820c309b>

Zuberi, S.M., Wirrell, E., Yozawitz, E., Wilmshurst, J.M., Specchio, N., Riney, K., Pressler, R., Auvin, S., Samia, P., Hirsch, E., Galicchio, S., Triki, C., Snead, O.C., Wiebe, S., Cross, J.H., Tinuper, P., Scheffer, I.E., Perucca, E., Moshé, S.L., Nabbout, R., 2022. ILAE classification and definition of epilepsy syndromes with onset in neonates and infants: Position statement by the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia* 63, 1349–1397. <https://doi.org/10.1111/epi.17239>

## Spisak skraćenica

ACMG-AMP	eng. <i>American College of Medical Genetics and Genomics and Association for Molecular Pathology</i> , Američki koledž za medicinsku genetiku i genomiku i Udruženje za molekularnu patologiju
ADEAF	autozomno dominantna epilepsija sa auditornim fenomenima
ADRESD	eng. <i>autosomal dominant rolandic epilepsy with speech dyspraxia</i> , autozomno dominantna epilepsija sa dispraksijom govora
ADSHE	eng. <i>autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy</i> , autozomno dominantna hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem
AET	antiepileptička terapija
ATP	adenozin tri fosfat
AV	arterijovenska
BMKS	bolest malih krvnih sudova
BN	bez napada
CADD	eng. <i>Combined Annotation Dependent Depletion</i>
CAE	eng. <i>childhood absans epilepsy</i> , dečja absansna epilepsija
CI	eng. <i>confidence interval</i> , interval poverenja
CMA	eng. <i>chromosomal microarray</i> , hromozomski mikroarej
CNV	eng. <i>copy number variant</i> , varijanta broja ponovaka
CT	eng. <i>computerized tomography</i> , kompjuterizovana tomografija
D/EE	razvojna i/ili epileptička encefalopatija (eng. <i>developmental and/or epileptic encephalopathy</i> )
D/EE-SWAS	eng. <i>developmental and/or epileptic encephalopathy with spike-wave activation in sleep</i> , razvojna i/ili epileptička encefalopatija sa šiljak talas aktivnošću u spavanju
DALY	eng. <i>disease adjusted life years</i> , korekcija godina života usled bolesti
DCO	dečja cerebralna oduzetost
DNET	disembrioblastični neuroepitelijalni tumor
DS	Dravet sindrom
EEG	elektroencefalografija

EFMR	eng. <i>epilepsy and mental retardation limited to females</i> , epilepsija i mentalna retardacija ograničena na ženske osobe
EIDEE	eng. <i>early infantile developmental and/or epileptic encephalopathy</i> , rana infantilna razvojna i/ili epileptička encefalopatija
EIMFS	eng. <i>epilepsy of infancy with migrating focal seizures</i> , infantilne epilepsije sa migrirajućim fokusima
EL	epileptogena lezija
ES	epileptički spazam
ETLE	eng. <i>extratemporal lobe epilepsy</i> , ekstartemporalna epilepsija
FCD	eng. <i>focal cortical dysplasia</i> , fokalna kortikalna displazija
FDG	fluorodeoksiglukozna
FE	fokalna epilepsija
FFEVF	eng. <i>familial focal epilepsy with variable foci</i> , familijarna fokalna epilepsija sa varijabilnim fokusima
FIRES	eng. <i>febrile infection related epilepsy syndrome</i> , epileptički sindrom povezan sa febrilnom infektivnom bolešću
FISH	fluorescentna in situ hibridizacija
FLAIR	eng. <i>fluid attenuated inversion recovery</i>
FLE	eng. <i>frontal lobe epilepsy</i> , epilepsija frontalnog režnja
FMTLE	eng. <i>familial mesial temporal lobe epilepsy</i> , familijarna meziotemporalna epilepsija
FN	fokalni napad
FRE	farmakoreistentna epilepsija
GABA	eng. <i>gamma-aminobutyric acid</i> , gama aminobuterna kiselina
GATK	eng. <i>Genome Analysis Toolkit</i>
GE	generalizovana epilepsija
GEFS+	eng. <i>genetic epilepsy with febrile seizures plus</i> , genetska epilepsija sa febrilnim napadima plus
GGE	genetska generalizovana epilepsija
GN	generalizovani napad
GOF	eng. <i>gain of function</i> , dobitak funkcije

GWAS	eng. <i>genome wide association studies</i> , studije asocijacije sa celim genomom
HIE	hipoksično ishemijska encefalopatija
HMPAO	heksametil-propilen-amin oksim
HS	hipokampalna skleroza
IGTK	epilepsija sa izolovanim generalizovanim toničko-kloničkim napadima
ILAE	eng. <i>International League Against Epilepsy</i> , Internacionalna liga za borbu protiv epilepsije
ILE	eng. <i>insular lobe epilepsy</i> , epilepsija insularnog režnja
IO	intelektualna onesposobljenost
IQR	eng. <i>inter-quartal range</i> , interkvartalni raspon
JAE	juvenilna apsansna epilepsija
JME	juvenilna mioklonička epilepsija
KE	kombinovana fokalna i generalizovana epilepsija
LEAT	eng. <i>long term epilepsy related tumor</i> , tumor povezan sa dugoročnom epilepsijom
LKS	Landau-Kleffner-ov sindrom
LOF	eng. <i>loss of function</i> , gubitak funkcije
MAF	eng. <i>minor allele frequency</i> , učestalost retkog alela
MANE	eng. <i>Matched Annotation from NCBI and EMBL-EBI</i>
MCD	eng. <i>malformation of cortical development</i> , malformacija kortikalnog razvoja
MOGHE	eng. <i>mild malformation of cortical development with oligodendroglial hyperplasia in epilepsy</i> , blaga malformacija kortikalnog razvoja sa oligodendroglijalnom hiperplazijom
MR	magnetna rezonancija
MS	multipla skleroza
MTLE	eng. <i>mesial temporal lobe epilepsy</i> , meziotemporalna epilepsija
mTOR	eng. <i>mechanistic target of rapamycin</i> , mehanicistička meta rapamicina
mTORC1	eng. <i>mTOR complex 1</i> , mTOR kompleks 1
mTORC2	eng. <i>mTOR complex 2</i> , mTOR kompleks 2
NE	neklasifikovana epilepsija

NINDS	eng. <i>National Institute of Neurological Disorders and Stroke</i> , Nacionalnog instituta za neurološke bolesti i moždani udar
NLFE	neleziona fokalna epilepsija
NMD	eng. <i>nonsense-mediated decay</i> , nonsense-posredovana degradacija RNK
NN	neklasifikovani napad
NSFE	nestečena fokalna epilepsija
OMIM	eng. <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
OR	eng. <i>odds ratio</i> , odnos šanse
PAS	poremećaj iz autističnog spektra
PET	pozitronska emisijska tomografija
PMG	polimikrogirija
PNEN	psihogeni neepileptički napadi
PQE	eng. <i>posterior quadrant epilepsy</i> , epilepsija posteriornog kvadranta
PSR	poligenetski skor rizika
PTV	eng. <i>proteine truncating variant</i> , varijanta koja dovodi do skraćivanja proteina
PVNH	periventrikularna nodularna heterotopija
REVEL	eng. <i>Rare Exome Variant Ensemble Learner</i>
SDS	eng. <i>sodium dodecyl sulfate</i> , natrijum-dodecil-sulfat
SeLECTS	eng. <i>self-limited epilepsy with centrotemporal spikes</i> , samoograničena epilepsija sa centrotemporalnim šiljcima
SeLIE	eng. <i>self-limited infantile epilepsy</i> , samoograničena infantilna epilepsija
SeLNE	eng. <i>self-limited neonatal epilepsy</i> , samoograničena neonatalna epilepsija
SeLNIE	eng. <i>self-limited neonatal/infantile epilepsy</i> , samoograničena neonatalna/infantilna epilepsija
SFE	stečena fokalna epilepsija
SHE	eng. <i>sleep-related hypermotor epilepsy</i> , hipermotorna epilepsija povezana sa spavanjem
SMR	eng. <i>standardized mortality ratio</i> , odnos standardizovanog mortaliteta
SNV	eng. <i>single nucleotide variant</i> , varijanta pojedinačnog nukleotida



SPECT	eng. single photon emission computed tomography
SUDEP	eng. <i>sudden unexpected death in epilepsy</i> , iznenadna neočekivana smrt u epilepsiji
T1w	eng. <i>T1 weighted inversion recovery</i>
T2w	eng. <i>T2 weighted</i>
TKN	toničko-klonički napadi
TLE	eng. <i>temporal lobe epilepsy</i> , epilepsija temporalnog režnja
TLE+	eng. <i>temporal lobe plus epilepsy</i> , epilepsija temporalnog režnja plus
TSC	eng. <i>tuberous sclerosis complex</i> , kompleks tuberozne skleroze
ULD	Unverricht-Lundborg-ova bolest
VEM	video-EEG monitoring
WES	eng. <i>whole exome sequencing</i> , sekvenciranje celog egzoma
WGS	eng. <i>whole genome sequencing</i> , sekvenciranje celog genoma
YLD	eng. <i>years of life with disability</i> , godine života sa onesposobljenošću
YLL	eng. <i>years of life lost</i> , izgubljene godine života



## Biografija kandidata

Maša Kovačević je rođena 29. novembra 1984. godine u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju.

Upisala je Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu 2003. godine, na kome je diplomirala 2009. godine sa prosečnom ocenom 9,74. Nagrađena je od strane Dekana kao najbolji student druge i treće godine studija, a bila je i laureat nagrade fondacije „Nikole Spasića“ za najboljeg diplomiranog studenta 2009. godine. Tokom studija je bila stipendista Fonda za mlade talente Ministarstva omladine i sporta, stipendista Grada Beograda, kao i Ministarstva nauke.

U toku 2009. i 2010. godine je obavila lekarski staž u Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu, nakon čega je volonterski angažovana na poslovima kliničkog lekara na Odeljenju za epilepsiju i poremećaj spavanja, Klinike za neurologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu. U toku 2011. godine je zaposlena kao lekar opšte medicine u Centru vojnomedicinskih usluga Beograd. Kasnije iste godine je zaposlena kao klinički lekar u Klinici za neurologiju. U oktobru 2013. godine je započela specijalizaciju iz neurologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a specijalistički ispit je položila u aprilu 2019. godine sa ocenom 5. Od tada je angažovana kao specijalista neurologije na Odeljenju za epilepsiju i poremećaj spavanja, a potom od 2022. godine na Odeljenju urgentne neurologije. Od 2023. godine je zaposlena na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu u zvanju kliničkog asistenta.

U toku 2012. godine se usavršavala iz oblasti neurofiziologije i epileptologije u Centru za epilepsije Klivlend Klinike u Ohaju, SAD, čiji je rukovodilac dr Imad Najm. Od oktobra 2023. godine je na užoj specijalizaciji iz Neurofiziologije sa epileptologijom na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Tokom 2017. godine je završila Specijalističke akademske studije iz oblasti Neurologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, odbranom završnog rada pod nazivom „Podudarnost neinvazivnog iktalnog elektroencefalografskog zapisa sa lokalizacijom epileptogene lezije kod farmakorezistentne fokalne ekstratemporalne epilepsije“ pod mentorstvom prof. dr Nikole Vojvodića.

Autor je i koautor većeg broja radova objavljenih u naučnim časopisima koji se citiraju na *PubMed*-u, a imala je i usmene i poster prezentacije na domaćim i stranim kongresima, kao i predavanja po pozivu.



## Objavljeni naučni radovi koji čine deo doktorske disertacije

- 1: Kovačević M, Sokić D, Ristić A, Berisavac I, Ercegovac M, Milićević O, Vojvodić N. **Familial occurrence of seizure disorders across MRI defined structural focal epilepsy etiology.** J Clin Neurosci. 2024 Mar 19;123:15-22. doi:10.1016/j.jocn.2024.03.010. Epub ahead of print.
- 2: Kovačević M, Milićević O, Branković M, Janković M, Novaković I, Sokić D, Ristić A, Shamsani J, Vojvodić N. **Novel variants in established epilepsy genes in focal epilepsy.** Seizure. 2023 Aug;110:146-152. doi:10.1016/j.seizure.2023.06.005. Epub 2023 Jun 7.
- 3: Kovačević M, Janković M, Branković M, Milićević O, Novaković I, Sokić D, Ristić A, Shamsani J, Vojvodić N. **Novel GATOR1 variants in focal epilepsy.** Epilepsy Behav. 2023 Apr;141:109-139. doi: 10.1016/j.yebeh.2023.109139. Epub 2023 Feb 26.
- 4: Kovačević M, Vojvodić N. **GATOR1 gene variants in focal epilepsy.** Medicinski podmladak. 2024 75 (3). doi: 10.5937/mp75-45140



## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Maša Kovačević

Broj indeksa 5075/2017

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

ZNAČAJ GENETSKE ANALIZE U DEFINISANJU ETIOLOGIJE BOLESTI KOD PACIJENATA SA FOKALNOM EPILEPSIJOM

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**



U Beogradu, 05.01.2024.

---



## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Maša Kovačević

Broj indeksa: 5075/2017

Studijski program: Neurologija

Naslov rada ZNAČAJ GENETSKE ANALIZE U DEFINISANJU ETIOLOGIJE BOLESTI KOD PACIJENATA SA FOKALNOM EPILEPSIJOM

Mentor prof. dr Nikola Vojvodić

Komentor prof. dr Ivana Novaković

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**



U Beogradu, 05.01.2024.



## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

ZNAČAJ GENETSKE ANALIZE U DEFINISANJU ETIOLOGIJE BOLESTI KOD PACIJENATA SA FOKALNOM EPILEPSIJOM

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

① Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

**Potpis autora**



---

U Beogradu, 05.01.2024.



1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.