

Lateral Temporal Lob Epilepsisine İlişkin Yeni Genetik Bilgiler: Tüm Ekzom Dizilemesinden Elde Edilen Bulgular

Novel Genetic Insights into Lateral Temporal Lobe Epilepsy: Findings from Whole Exome Sequencing

Barış SALMAN^{1,2}, **Yeşim KESİM**³, **Nermin Görkem ŞİRİN**⁴, **Seda SÜSGÜN**^{1,2,5}, **Güneş ALTIOKKA UZUN**^{2,4}
Sibel UĞUR İŞERİ¹, **Nerses BEBEK**⁴, **Betül BAYKAN**⁴

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³Oxford NIHR Biomedical Research Centre, University of Oxford, Birleşik Krallık

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Lateral temporal lob epilepsisi (LTLE) işitsel auralar ile karakterizedir ve sıklıkla genetik faktörlerle ilişkilendirilir. Önceki çalışmalar, *LG11* dahil olmak üzere LTLE ile bağlantılı çeşitli genleri tanımlamıştır. Bununla birlikte, özellikle *LG11* mutasyonlarının yokluğunda LTLE fenotipine katkıda bulunan diğer genetik varyantların araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Yöntem: Epilepsi merkezimizde takip edilen ve işitsel auralı LTLE tanısı alan bir kohort çalışmaya alındı. İki aşamalı bir yaklaşım kullanarak 19 hastanın ekzom dizileme verileri analiz edildi. İlk adımda *LG11*, *RELN*, *MICAL1*, *CNTNAP2*, *DEPDC5* ve *SCN1A* olmak üzere LTLE ile ilişkili altı gene odaklandık. İkinci adımda, veriler epilepsi ile ilgili genlerin bir listesine göre filtrelenmiştir.

Bulgular: Analizimiz, LTLE ile ilişkili genlerde *RELN*, *SCN1A* ve *CNTNAP2* dahil olmak üzere yeni varyantlar tanımlamış ve önceki bulguları doğrulamıştır. İlk kez *CHRNA2* geninde LTLE fenotipi ile ilişkili olabilecek bir işlev kaybı varyasyonu tespit ettik.

Sonuç: Çalışmamız, hastalıkla bağlantılı yeni genetik varyantları tanımlayarak lateral temporal lob epilepsisinin (LTLE) genetik heterojenliğinin altını çizmektedir. Özellikle, *CHRNA2*'nin LTLE ile ilişkili yeni bir gen olduğunu ve böylece bilinen genetik katkıda bulunanların spektrumunu genişlettiğini öneriyoruz. Bu bulgu, LTLE'nin karmaşık genetik altyapısını ortaya koymakta; gelecekteki araştırma ve klinik uygulamalara yeni bir bakış açısı kazandırmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Lateral temporal lob epilepsisi, işitsel özellikli epilepsi, *LG11*, *SCN1A*, ekzom dizileme

ABSTRACT

Introduction: Lateral temporal lobe epilepsy (LTLE) is characterized by auditory auras and is often associated with genetic factors. Previous studies have identified various genes linked to LTLE, including *LG11*. However, there remains a need to explore other genetic variants that contribute to the LTLE phenotype, particularly in the absence of *LG11* mutations.

Methods: A cohort followed in our epilepsy center and diagnosed as LTLE with auditory aura was recruited to the study. We have performed whole exome sequencing data analysis of 19 patients using a two-step approach. In the first step, we have focused on six LTLE associated genes, namely *LG11*, *RELN*, *MICAL1*, *CNTNAP2*, *DEPDC5* and *SCN1A*. In the second step, the data was filtered against a list of epilepsy related genes.

Results: Our analysis identified novel variants in LTLE-associated genes, including *RELN*, *SCN1A*, and *CNTNAP2*, which confirmed previous findings. Importantly, for the first time, we identified a loss-of-function variation in the *CHRNA2* gene that may be associated with the LTLE phenotype.

Conclusion: Our study underscores the genetic heterogeneity of lateral temporal lobe epilepsy (LTLE) by identifying new genetic variants linked to the disorder. Notably, we propose that *CHRNA2* is a novel gene associated with LTLE, thereby broadening the spectrum of known genetic contributors. This finding highlights the complexity of LTLE's genetic landscape and suggests new pathways for future research and clinical application.

Keywords: Lateral temporal lobe epilepsy, epilepsy with auditory features, *LG11*, *SCN1A*, exome sequencing

Cite this article as: Salman B, Kesim Y, Şirin NG, Süsgün S, Altıokka Uzun G, Uğur İşeri S. ve ark. Novel Genetic Insights into Lateral Temporal Lobe Epilepsy: Findings from Whole Exome Sequencing. Arch Neuropsychiatry 2026;63:180–186. doi: 10.29399/npa.28894

Öne Çıkan Noktalar

- LTLE'de baskın kalıtım moduna sahip çeşitli genlerin etkilerini araştırmak
- *RELN*, *SCN1A* ve *CNTNAP2* dahil olmak üzere LTLE ile ilişkili genlerde yeni varyantlar
- *CHRNA2*'deki işlev kaybı varyasyonu LTLE ile ilişkili olabilir

GİRİŞ

İşitsel özelliklere sahip epilepsi, işitsel auralar veya afazi ile karakterize edilen nadir bir fokal epilepsi türüdür. Belirtilen bu spesifik nöbet özellikleri, lateral temporal lobun tutulum belirtileri olarak kabul edilir ve bu epilepsi sendromu genellikle lateral temporal lob epilepsisi (LTLE) olarak adlandırılır (1,2). LTLE'nin prognozu genellikle iyi seyirli olsa da, anti-nöbet ilaçlara karşı direnç gösteren vakalar da bildirilmiştir (3). LTLE için manyetik rezonans görüntüleme (MRG) lezyonsuz bir yapıya sahip ise genetik etiyolojiyi destekler. Bu genetik köken, ya otozomal dominant bir geçişle, ya da bir ailede ilk kez de novo bir varyasyonla ortaya çıkabilir (4). Şu ana kadar, *LG11*, *RELN* ve *MICAL1* gibi birkaç genin patojenik ve heterozigot varyasyonlarının LTLE ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (5-7). Ayrıca, *CNTNAP2*, *DEPDC5* ve *SCN1A* genlerindeki diğer heterozigot varyasyonların LTLE ile olası ilişkileri bu sendromun klinik ve genetik spektrumunu genişletmektedir (8,9).

Epi25 iş birliği tarafından gerçekleştirilen nadir varyant yükü analizleri, epilepsi ile ilgili genlerde ultra-nadir zararlı varyasyonların, edinsel olmayan fokal epilepsiler (non-acquired focal epilepsies, NAFE) dahil olmak üzere, epilepsinin tüm alt türlerinde arttığını göstermiştir (10). Yaygın varyasyonların ise poligenik risk skor açısından, NAFE grubunda yeterli güce sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun fenotipik ve genetik heterojenlikten kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (11). Genetik anlamlılık sağlamak için LTLE gibi homojen fokal epilepsi kohortlarında nadir varyasyonların değerlendirilmesi önemlidir (12).

Daha önce yaptığımız bir çalışmada, LTLE kohortumuzdaki klinik bulguları tanımlayıp, kohortumuzda *LG11* geni patojenik varyasyonlarını taradık (4). Bu kohorttan sadece bir bireyde, *LG11*'de yeni bir de novo patojenik varyant tespit edildi. *LG11*'in temel etken olmadığına anlaşılması üzerine, geri kalan 25 örnekten 19'u uluslararası bir ekzom dizileme (whole exome sequencing, WES) çalışması için seçildi (Epi25 iş birliği: <http://epi-25.org>). Bu çalışmada, LTLE ile ilişkili varyasyonları WES verisi kullanılarak analiz etmeyi ve LTLE'deki genotip-fenotip spektrumunu daha da genişletmeyi amaçladık.

YÖNTEM

Hasta seçimi ve klinik veriler

Klinik olarak LTLE ile uyumlu olan ve epilepsi merkezimizde epileptologlar tarafından takip edilen 26 hastadan 19'u WES analizi için çalışmaya alınmıştır. İlk 26 hastadan yedisi yetersiz DNA ve/veya veri kalitesi nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır. Bir kişide pozitif *LG11* bulgusu Kesim vd., 2016 tarihli çalışmasında bildirildiği için WES analizinden çıkarılmıştır. Tüm hastalar için klinik, elektrofizyolojik ve MRG bulguları daha önce belgelenmiştir (4).

Çalışma protokolü İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 10 Nisan 2023 tarihinde 2023/684 dosya numarası ile onaylanmıştır. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş rıza formu alınmıştır.

Genetik analiz

Kandan elde edilen DNA, küresel bir epilepsi girişimi olan Epi25'in bir parçası olarak WES ile çalışılmıştır. Tüm veri üretimi ve ham veri işleme, Broad Institute'un daha önce açıkladığı yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir (10). Sekanslama kalitesini değerlendirmek için ekzom üzerindeki kapsama hesaplamaları mosdepth tarafından yapıldı (13). İlk olarak LTLE kohortumuzun VCF dosyaları çoklu VCF dosyasından ayrıldı. VCF dosyaları Ensembl Variant Effect Predictor Tool (VEP) (14) kullanılarak etiketlendi. Varyant etiketleme ve yorumlama adımlarını kolaylaştırmak için, SNP, delesyon ve insersiyonlar (delins) veya her ikisi de olan çok alleli bölgeler bölünmüş ve delesyon ve insersiyonlar bcftools kullanılarak sola hizalanmıştır. Akrabalık tahmini, vcftools'ta sağlanan Manichaikul ve ark. yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (15,16). Cinsiyet tahmini için, X kromozomu üzerindeki psödozomal bölgelerde bulunmayan varyantlar bcftools kullanılarak alınmış ve heterozigotların tüm varyantlara oranı hesaplanmıştır.

Filtreleme için iki aşamalı gen tabanlı bir yaklaşım kullanıldı. İlk olarak *LG11*, *RELN*, *MICAL1*, *CNTNAP2*, *DEPDC5* ve *SCN1A* olmak üzere LTLE ile ilişkili altı gene odaklanıldı. Aynı VCF dosyaları, Heyne ve ark. 2019 (17) tarafından sunulan nadir epilepsi genleri listesine karşı ikinci bir varyant filtreleme adımından geçirdi. Gen listesi, yinelenen *C12orf57* ve *MICAL1*'in çıkarılması ile düzenlendi. Ayrıca *GSTT1*, GRCh37 genomunda kanonik bir kromozomdayken GRCh38 üzerinde bir yama bölgesi bulunduğu için çıkarıldı. Gen aralıkları en son Ensembl gen etiketleme dosyasından alındı (erişim tarihi: 12 Ağustos 2022). Filtrelemenin alternatif gen sembollerinin kullanımından etkilenmemesi için bireysel VCF dosyaları, gen sembolleri yerine pozisyonlarla filtrelendi. Gen setleri genomik aralıklara göre filtrelendiğinden, epilepsi ile ilişkili olmayan bir gen üzerindeki örtüşen herhangi bir varyant manuel olarak ayıklanmıştır.

Filtrelemede okuma derinliği 15'ten az ve genotip kalitesi 20'den düşük varyantlar elendi. Sonrasında spesifik eşikler için iki ek filtre kullanıldı: çekinik kalıtım modeli için varyantların genotiplerinin homo/hemizigot olması ve popülasyon sıklığı %0,1'den düşük ya da toplumda hiç görülmemiş olması; baskın kalıtım modeli için varyantların genotiplerinin heterozigot olması ve toplumda hiç gözlenmemesi şartı arandı. Ayrıca, GATK JointCaller'dan VQSRTanche ve ExcessHet kalite metrikleri kullanıldı. Yayında sunulan varyasyonlar, başlangıçta InterVar kullanılarak American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) standartlarına göre sınıflandırıldı (18,19).

Seçilen varyantlar için sekans doğrulaması, standart prosedürler kullanılarak Sanger sekanslama yoluyla gerçekleştirildi. Kromatogramlar, CLC Main Workbench v6.5 yazılımı ile görselleştirilmiş ve analiz edilmiştir. (CLC Bio, Aarhus, Danimarka). Segregasyon analizi, yetişkin bireylerden oluşan bir kohort için ebeveynlerin mevcut olmaması nedeniyle gerçekleştirilmedi. Hem PCR amplifikasyonu hem de Sanger sekanslama için aynı primerler kullanıldı. Burada tablolaştırılan tüm varyantlar Ensembl VEP'in web versiyonu ile yeniden etiketlendi (son erişim tarihi: 09 Mart 2023). Gerektiğinde varyant bilgilerini dışa aktarmak için Ensembl BioMart aracı (son erişim tarihi: 09 Mart 2023) kullanıldı. Öncelikli varyantların alel frekansları; yaklaşık 1,8 milyon bireye ait veriyi kapsayan Genome Aggregation Database (v4.1.0) ve Regeneron Genetics Center Million Exome Variant Browser üzerinden elde edilmiştir (her iki tarayıcı için de son erişim tarihi 7 Haziran 2024'tür).

BrainSpan Atlas'tan RNA dizileme veri analizi

LG11, *CHRNA2* ve *RELN* genleri için çeşitli gelişim aşamalarının yanı sıra ergenlik ve yetişkinlik dönemleri için ifade düzeyleri, gelişmekte olan insan beyninin BrainSpan transkriptom profilinden elde edildi (son erişim tarihi: 09 Şubat 2023). Tanımlayıcı istatistikler ve *t*-testi yapmak için elektronik tablo yazılımı ve veri görselleştirme için ggplot2 kullanıldı.

BULGULAR

Klinik ve Genetik Bulgular

Tüm örnekler için ekzomun %84-91'i 30x üzerinde ve %98'i 10x üzerinde kapsanmıştır (Ek Tablo 1). Örneklerin hiçbirini birbiriyle akrabalık göstermemektedir ve tüm cinsiyet tahminleri beyan edilen cinsiyetle eşleşmektedir (Ek Şekil 1).

Tablo 1, LTLE ile ilişkili genler için filtrelenen varyantları içermektedir. Buna ek olarak, ikinci seviye analizimizden Vaka-2'de tespit edilen *CHRNA2*'deki olası patojenik kırılma varyantı, *CNTNAP2*'deki varyantıyla birlikte dahil edildi. Bu hastaların klinik bulguları aşağıda vaka bazında özetlendi. Ayrıca, nadir hastalık gen seti kullanılarak yapılan ikinci düzey analizde tespit edilen üç bağımsız varyant taşıyan başka bir hastanın (Vaka-6) klinik özellikleri de sunuldu. Ek Tablo 1, bu ikinci düzey analizden elde edilen sonuçların bir özeti sunmaktadır. Sonuç olarak, 15 vakada 19 varyant analiz filtrelenimi geçmiş, 4 vakada ise hiçbir varyant geçmemiştir (Ek Tablo 2).

Vaka-1

Vaka-1 *RELN*'de yeni bir heterozigot varyant tespit edilmiştir (ENST00000428762.6:c.9998T>G; p.(Val3333Gly)) (Şekil 1A, 1G). Hasta 38 yaşında bir kadın ve 2003 yılından beri merkezimizde takip edilmektedir. Kısa frenulum için geçirdiği operasyon öyküsü vardır. Bilinç kaybı ile birlikte olan veya olmayan basit işitsel auraların eşlik ettiği, fokal başlangıçlı bilateral tonik-klonik nöbetler gözlenmiştir. Bazı nöbetlerinde ayaklarından yükselen parestezi de yaşadı. Nörolojik muayenesi normaldi. MRG'de herhangi bir anormallik görülmedi. EEG'de epileptiform deşarjlar olmaksızın jeneralize yavaş dalgalar görüldü. Karbamazepin tedavisi altında, günlük olarak sadece kısa süreli auralar gözlemlendi.

Vaka-2

Vaka-2, *CHRNA2* (ENST00000368476.4:c.211-1G>T) (Şekil 1B, 1H, 1I) ve *CNTNAP2* (rs886555284: ENST00000361727.8:c.2863G>A; p.(Val955Ile)) genlerinde iki heterozigot varyant saptanmıştır (Şekil 1C). Bu 38 yaşındaki erkek hasta 18 yaşından itibaren kompleks işitsel auralarla birlikte fokal nöbetler geçirmeye başlamıştır. Bu auralar çoğunlukla normalde sevmediği bir şarkıyı duymaktan ibaretti. Nöbetleri fokalden bilateral tonik-klonik nöbetlere doğru ilerleme göstermiştir. Bazı nöbetlerinin aynı tür müzik dinlemekle tetiklendiğini belirtmiştir. Karbamazepin tedavisi altında yılda sadece bir veya iki kez auralar geçirdiyordu. Nörolojik muayenesi ve kraniyal MRG incelemesi normaldi. EEG'de sağ temporal bölgede diken dalgalar görüldü. *CHRNA2*'deki varyantın SpliceAI aracılığıyla çok yüksek güvenle (delta skoru =0,98) bir kırılmada alıcı kaybına neden olacağı tahmin edilmektedir. *CHRNA2*'nin otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi (ADNFLE) ile ilişkili olduğu literatürde bildirilmiştir (Şekil 1I).

Vaka-3

Vaka-3'te, *CNTNAP2* (ENST00000361727.8:c.3286G>A; p.(Glu1096Lys)) geninde Million Exome Variant Browser'da bir alel gözlenmiş çok nadir

bir heterozigot varyant saptanmıştır (Şekil 1D). 25 yaşındaki bu kadın hasta 14 yaşındayken nöbet geçirmeye başlamıştır. Nöbetleri afazi ve karmaşık işitsel auralar ile karakterize olup, bunu farkındalık kaybı ve yanağın sola sarması takip etmiştir. Nadiren bilateral tonik-klonik nöbetler geçirdiyordu. Nörolojik muayenesi ve kraniyal MRG incelemesi normaldi. Sık nöbetler (ayda 3-4) nedeniyle uzun süreli video-EEG takibi yapıldı. Elektroensefalografik bulgularda sağ frontotemporal bölgede diken deşarjları ve aynı bölgeden kaynaklanan dört nöbet saptandı. Nöropatoloji bulguları belirgin olmayan hastaya 2017 yılında sağ temporal lobektomi yapıldı ve o zamandan beri nöbetsizdir.

Vaka-4

Vaka-4'te, *CNTNAP2*'de GnomAD v4.1.0'da 2 alel olarak gözlenmiş çok nadir bir heterozigot varyant saptanmıştır (rs1286176571: ENST00000361727.8:c.1411A>T; p.(Ile471Phe)) (Şekil 1E). Bu varyant, gnomAD genomes v3.1.2'te belirtilmemiş bir popülasyonda yalnızca bir kez gözlenmiştir. Bu 47 yaşındaki erkek hastanın febril nöbet öyküsü vardı ve 16 yaşındayken nadir nöbetler geçirmeye başlamıştır. Farkındalığın korunduğu stereotipik fokal nöbetleri sırasında kulaklarında "helikopter" benzeri bir uğultu ve çınlama hissetmekte, bunu bilinç kaybı ile seyreden bilateral tonik-klonik nöbetler takip etmektedir. Nörolojik muayene ve MRG normaldi. EEG'de sol temporal diken dalgaları görüldü. Okskarbazepin tedavisi altında 5 yıllık remisyon ile iyi huylu seyretmektedir.

Vaka-5

Vaka-5'te, *SCN1A*'da daha önce görülmemiş bir varyant homozigot olarak saptanmıştır (ENST00000674923.1:c.2668C>G; p.(Leu890Val)) (Şekil 1F). Otuz altı yaşında kadın hastanın karmaşık işitsel özelliklerle başlayan fokal nöbetleri ve ardından dejavu hissi tanımlanmıştır. Ayrıca fokalden bilaterale tonik-klonik nöbetler geçirmiştir. Hasta altı aylıkken nöbetleri başlamış. Nörolojik muayenesi, MRG incelemesi ve EEG testleri normaldi. İki farklı anti-nöbet ilacı tedavisine rağmen, yılda 2-4 fokal ila bilateral tonik-klonik nöbet ve değişken sıklıkta işitsel auralar geçirmeye devam etti. *SCN1A*'daki patojenik varyantların çoğu heterozigot olmasına rağmen, *SCN1A* homozigot varyantları ile artan sayıda vaka raporu bulunmaktadır (20). *SCN1A* ile ilişkili geniş fenotip yelpazesi nedeniyle bu varyant çalışmaya dahil edilmiştir (21).

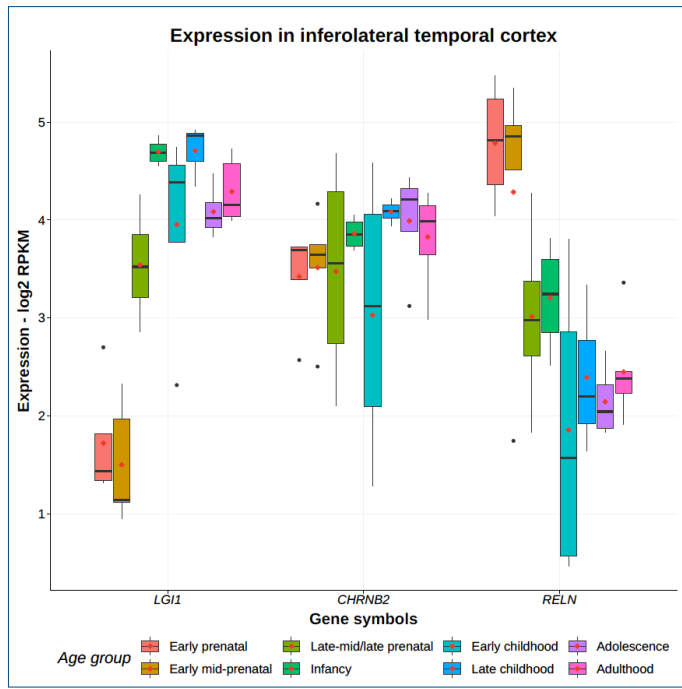
Vaka-6

Vaka-6, karıncalanma ve/veya anons sesi gibi işitsel auralarla seyreden nöbetleri nedeniyle 12 yıldır kliniğimizde takip edilen 41 yaşında bir kadın hastadır. Bazı nöbetleri bilateral tonik-klonik nöbetlere ilerlemiştir. Epilepsisi 21 yaşında başlamıştır. Çınlama veya hışırtı gibi ani sesler nöbetlerini tetikleyebilir. Tıbbi geçmişinde tam remisyonunda olan Hodgkin lenfoma, tam tedavi görmüş akciğer tüberkülozu ve depresyon mevcuttur. Nörolojik muayenesinde herhangi bir anormallik görülmemiştir. Kraniyal

Tablo 1. LTLE ile ilişkili genlerde saptanan varyantları gösteren birinci düzey analiz.

Case-# Genomic Position (GRCh38)	HGNC Symbol Consequence	HGVSc HGVSp	gnomADg AF / Epi25 AF / RGC ME Existing variation	SIFT PolyPhen	CADD PHRED SpliceAI Delta Score	EXON INTRON	GT VAF
Case-1 chr7:103,483,836A>C	<i>RELN</i> missense variant	ENST00000428762.6:c.9998T>G; p. (Val3333Gly)	NP / NP / NP NP	Del PrD	30 0	62/65 -	Het 0.55
Case-2 chr1:154,569,791G>T	<i>CHRNA2</i> splice acceptor variant	ENST00000368476.4:c.211-1G>T -	NP / NP / NP NP	- -	34 0.98 (Acceptor Loss)	- 2/5	Het 0.43
Case-2 chr7:148,172,331G>A	<i>CNTNAP2</i> missense variant	ENST00000361727.8:c.2863G>A; p. (Val955Ile)	NP / NP / 6.083e-7 rs886555284	Tol Ben	21.9 0	18/24 -	Het 0.50
Case-3 chr7:148,229,684G>A	<i>CNTNAP2</i> missense variant	ENST00000361727.8:c.3286G>A; p. (Glu1096Lys)	NP / NP / 6.083e-7 NP	Del PrD	24.9 0	20/24 -	Het 0.54
Case-4 chr7:147,300,203A>T	<i>CNTNAP2</i> missense variant	ENST00000361727.8:c.1411A>T; p. (Ile471Phe)	6.57e-6 / - / 6.083e-7 rs1286176571	Del Ben	16.66 0	9/24 -	Het 0.49
Case-5 chr2:166,038,054G>C	<i>SCN1A</i> missense variant	ENST00000674923.1:c.2668C>G; p. (Leu890Val)	NP / NP / NP NP	Del PrD	23.4 -	18/29 -	Hom 1.00

AF: Alel Frekansı; Ben: İyi huylu (Benign); Del: Zararlı (Deleterious); GT: Genotip; Het: Heterozigot; Hom: Homozigot; NP: Mevcut değil; PrD: Muhtemelen hasar verici; Tol: Tolere edilen; VAF: Varyant Alel Fraksiyonu.



Şekil 2. Erken prenatal dönemden yetişkinliğe kadar çeşitli yaş gruplarında RELN, LGI1 ve CHRN2 genlerinin inferolateral temporal korteksteki ekspresyonu (veriler BrainSpan gelişimsel transkriptom veri setinden alınmıştır).

MRG incelemesinde patolojik bulgu saptanmamıştır. EEG'de sol temporal bölgede herhangi bir epileptiform deşarj olmaksızın yavaş dalgalar görüldü. Dört anti-nöbet ilaç (karbamazepin, levetirasetam, zonisamid ve lakosamid) ile tedavi altında olan hasta halen ayda 1-4 kez nöbet geçirmektedir.

WES verilerine göre birden fazla bağımsız epilepsi ile ilişkili nadir varyant için heterozigottur: (i) *CHRNA4*: ENST00000370263.9:c.1825G>A; p.Val609Ile (rs201168195), ClinVar veritabanında ADNFE ile ilişkili olduğu için klinik önemi bilinmeyen varyant (VUS) olarak sınıflandırılmıştır. (ii) *GABRA3*: ENST00000370314.9:c.1211C>G; p.Pro404Arg X kromozomu üzerinde, (iii) *SCAF4*: ENST00000286835.12:c.2855A>G; p.Gln952Arg.

CHRN2 ile ilgili analizler

LG11 ve *RELN* olmak üzere iki ana LTLE geninin yanı sıra *CHRN2*'nin ekspresyonu için RNA dizileme tabanlı gelişimsel transkriptom için BrainSpan atlasını araştırdık. Atlasta yer alan 26 geçerli beyin yapısı arasından, profili çıkarılan tüm gelişim aşamaları boyunca inferolateral temporal korteksi (ITC) seçtik (22). *CHRN2*, *LG11* ve *RELN* gibi ITC'de de tüm aşamalarda eksprese edilmektedir (Şekil 2). *CHRN2* ekspresyonu, prenatal evrelerin erken ve orta dönemlerinin sonuna kadar *LG11*'den daha yüksektir ($p < 0,05$). *CHRN2* ifadesi, ergenlik ve yetişkinlik dahil olmak üzere daha sonraki aşamalarda *RELN* ifadesinden daha yüksektir ($p < 0,05$). Ensembl BioMart aracını kullanarak nAChR alt birim genlerinde, yani *CHRNA2*, *CHRNA4* ve *CHRN2*'de, klinik olarak patojenik olduğu ya da patojenik olma ihtimali bulunduğu bildirilen tüm varyantlar veri tabanlarından elde edilmiştir. Daha sonra Ensembl VEP aracını kullanarak tüm bu varyantların anotasyonları yapıldı (Ek Tablo 3).

LTLE gibi edinsel olmayan fokal epilepsilerin genetik etiyojisi, mevcut nadir ve yaygın küçük varyantlar ile CNV yaklaşımlarıyla aydınlatılması en güç alanlar arasındadır. Çalışmamız, LTLE etiyojisinin heterojen olabileceğini ortaya koymakta ve işitsel özelliklere sahip otozomal dominant epilepsili, ancak *LG11* patojenik varyantları bulunmayan ailelerde genetik faktörlerin ve kalıtımın etkilerini incelemektedir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, LTLE ile ilişkili nadir genetik varyantları bireye özel bir yaklaşımla keşfetmeyi amaçladık. Bu doğrultuda, önceliklendirdiğimiz varyasyonları taşıyan altı LTLE hastasının detaylı klinik özellikleri sunulmuştur. Analizlerimizdeki öncelikli hedefimiz, kohortumuzda *LG11* dışındaki genlerdeki varyasyonları tespit etmektir (4). İkinci motivasyonumuz, kohortumuzdaki diğer epilepsiyle ilişkili nadir varyasyonların sistematik olarak analiz edilmesiydi. İkinci analizde yalnızca varyantların frekansına değil, aynı zamanda filtrelenmiş varyantların zigositesine de odaklandık. Örneğin, etkilenmiş bireyde varyant heterozigot ise, epilepsiyle ilişkili resesif hastalıklardan sorumlu genlerdeki kapsam dışı bırakılmıştır. Bu yaklaşım, her bireyin genetik durumu ne olursa olsun genomunda potansiyel olarak patojenik ve resesif varyantlar taşımasındandır (23). Bu nedenle, dominant hastalıklarla ilişkili genlerde yeni heterozigot varyantlar ve resesif hastalıklarla ilişkili genlerde yeni veya nadir (belirlenmiş bir taşıyıcı frekansı sınırı altında) homozigot/hemizigot varyantlar aradık. Heterozigot *GABRA3* varyantı, X kromozomunda gözlemlenen bir kadında (Vaka-6) tespit edilen yeni bir varyant olduğu için bu kuralın tek istisnasıdır. Daha önce, taşıyıcı kadınlarda hafif epilepsi görülebildiği rapor edilmiştir (24).

Sonuçlarımız, Türkiye'den bir hasta grubunda *RELN* ve *CNTNAP2*'nin LTLE fenotipine olan katkısını desteklemektedir. İtalya'dan yakın tarihteki bir çalışmada, işitsel özelliklere sahip akraba olmayan 112 epilepsi hastasında *LG11*, *RELN*, *SCN1A* ve *DEPDC5* genlerindeki varyasyonlar araştırılmıştır. Çalışmada, beş probanda *LG11* ve *RELN* genlerinde dört farklı genetik bulgu ortaya çıkarılmıştır (8). Ayrıca, daha önceki yayınlarında sunulan *SCN1A* ve *DEPDC5* genlerindeki toplam dört varyant da tartışmaya dahil edilmiştir. Bisulli ve ark., 2021 çalışması, hem sporadik hem de ailesel vakalara odaklanmış ve bilinmeyen kalıtım modellerine sahip hastalar ile eksik penetransa sahip aileleri içermiştir. Bu, aile öyküsü olmayan tekil bireylerin dahil edildiği bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bu hastalarda bulunan LTLE ile ilişkili varyasyonları, varyantların patojenite tahminlerinde uyumu sağlamak için doğru ACMG kriterleri kullanılarak belirlemek önemlidir (25).

Kohortumuzdaki en çarpıcı bulgu, *CHRN2*'nin LTLE fenotipine olası katkısıdır. *CHRN2*, nöronal nikotinik asetilkolin reseptörünün (nAChR) beta2 alt birimini kodlamaktadır. *CHRN2*'de azalmış penetrans ve değişken ekspresiviteye sahip heterozigot patojenik varyasyonlar, nokturnal frontal lob epilepsisi (ENFL3: MIM 605375) ile ilişkilendirilmiştir (26). ENFL, uykuda meydana gelen motor nöbet kümeleriyle karakterize edilen bir fokal epilepsi sendromudur (27). ENFL ile ilişkili diğer nAChR alt birimlerini kodlayan genler arasında alfa-4 alt birim geni *CHRNA4* ve alfa-2 alt birim geni *CHRNA2* yer almaktadır. Yakın zamanda, *CHRN2* ve *CHRNA4* genlerinde klinik önemi bilinmeyen düşük penetransa sahip varyantların, uyku ile ilişkili insüler epilepsiye sahip iki hastada tespit edildiği bildirilmiştir (28). Frontal ve temporal loblar nöroanatomi olarak farklı olsa da işlevsel bir etkileşim halindedir. Frontal lob disfonksiyonu ve temporal lob epilepsisi (TLE) ile ilgili mekanizmalar, nöropsikolojik ve fonksiyonel nörogörüntüleme çalışmalarıyla hâlâ araştırılmaktadır (29). Böyle farklı beyin bölgelerinde mekansal ve zamansal olarak eksprese edilen genlerdeki varyasyonların, değişken nöbet semiyolojisine sahip fokal epilepsi sendromlarına yol açması mümkündür.

BrainSpan Atlas'ını kullanarak, *CHRN2*'nin RNA dizileme bazlı gelişimsel transkriptomdaki ekspresyon durumunu, literatürde tanımlanmış *LG11* ve *RELN* gibi LTLE ile ilişkili genlerle karşılaştırdık. Atlasın 26 geçerli beyin yapısı arasından, tüm gelişimsel aşamalarda profillenen inferolateral temporal korteksi (ITC) seçtik (22). *CHRN2*, *LG11* ve *RELN* gibi ITC'de tüm aşamalarda eksprese edilmektedir (Şekil 2). *CHRN2* ekspresyonu, erken orta prenatal dönemlerin sonuna kadar *LG11*'den anlamlı şekilde daha yüksektir ($p < 0.05$). *CHRN2* ekspresyonu, ergenlik ve yetişkinlik

dahil olmak üzere daha sonraki aşamalarda *RELN*'den anlamlı şekilde daha yüksektir ($p<0,05$).

Tüm nAChR alt birim genlerindeki, yani *CHRNA2*, *CHRNA4* ve *CHRN2*'deki, klinik olarak en az bir kez patojenik veya olası patojenik olarak tanımlanmış varyantları veri tabanlarından çektik. Daha sonra bu varyantların tamamını Ensembl VEP kullanarak 13 farklı lokusta yeniden analiz ettik (Ek Tablo 1). Varyantların neredeyse tamamı yanlış anlamlıdır (missense) ve nörotransmitter kapılı iyon kanalı transmembran bölgesini kodlayan en büyük ekzonunda yer almaktadır. Bu çalışmada tespit edilen *CHRN2*'deki işlev kaybı varyantı, gen ürününün haploetersizliği nedeniyle alternatif olarak LTLE'ye yol açabilir.

İkinci seviye analizlerimizde ek genetik bulgular saptanmıştır. Vaka-6, *SCAF4* ve *GABRA3* genlerinde iki yeni heterozigot varyant taşımaktadır (Ek Tablo 1). *SCAF4*, otozomal dominant bir nörogelişimsel bozuklukla ilişkilidir, *GABRA3* ise çeşitli epileptik nöbet türleriyle ilişkilendirilmiştir (24). Ayrıca, *CHRNA4* geninde bir VUS taşımaktadır. Epilepsi ile ilişkili genlerde birden fazla nadir varyant taşıyan bireylerde, poligenik risk skoru hesaplamaları katkı sağlayabilir. Benzer şekilde, Vaka-7, *PACS2*, *RBFOX1* ve *KMT2D* genlerinde heterozigot yeni varyantlar taşımaktadır (Ek Tablo 1).

Bu bulgular, Türkiye'deki tek bir merkezde elde edilen benzer sonuçlarımızla birlikte, genetik heterojenlik görüşünü ve bilinen genlerin LTLE'ye katkısının oldukça sınırlı olduğunu desteklemektedir. Yeni nesil dizileme çağında olmamıza rağmen, belirgin özelliklere sahip bu tipik epilepsi sendromunun genetik altyapısının hâlâ tam olarak anlaşılammış olması keşfedilmeyi bekleyen yeni genetik mekanizmaların varlığına işaret etmektedir.

Klinik açıdan bakıldığında, LTLE genellikle selim seyirlidir ve standart anti-nöbet ilaçlarına iyi yanıt verir. Fokal nöbetlerin bilateral tonik-klonik nöbetlere dönüşmesiyle birlikte, genellikle "fokal bozulmuş farkındalık" ve "fokal farkındalık" nöbetlerin yanı sıra belirgin, tekrarlayan işitsel auraların görülmesi, klinik tanıyı destekler. LTLE hastalarında, kranial MRG incelemesi yapılmalı ve ayrıntılı aile öyküsü alınmalıdır. Bu kohortta gözlemlendiği üzere, bazı hastalarda nöbetlerin ses veya müzik uyaralarıyla tetiklendiği bir refleks bileşen de tabloya eşlik edebilmektedir.

LTLE'deki genetik bulgular, klinik değerlendirme şüpheli olduğunda teşhisi destekleyebilir. Örneğin, interiktal EEG sıklıkla normal veya spesifik olmayan bulgular sergiler. Özellikle klinik ve genetik olarak pozitif hastalarda akrabaların değerlendirilmesi, nöbet geçiren bireylerde erken tanı ve tedaviyi mümkün kılabilir. Belirsiz aura semptomlarına bağlı olarak teşhis gecikmesi ve yanlış teşhis riski, fokal nöbetlerin daha şiddetli olan bilateral tonik-klonik nöbetlere dönüşmesine ve çok nadir de olsa SUDEP'e (epilepside beklenmedik ani ölüm) yol açabilir (30).

Her hasta için WES verilerinin analizi, iyi tanımlanmış bir LTLE kohortu için güçlü bir tanısal araçtır. Daha büyük LTLE kohortlarına uygulandığında, bu çalışma istatistiksel olarak daha sağlam sonuçlar verebilir. Ancak, çalışma filtrelenmiş ekzom dizileme verilerine dayandığı için analiz dışı bırakılan genetik varyasyonlar değerlendirilmemiştir. Ek olarak, ekzom dizileme ile tespit edilemeyen kodlanmayan bölgelerdeki varyantları ile kopya sayısı ve yapısal varyantlar da LTLE ile ilişkili olabilir, ancak bu çalışmanın kapsamı dışındadır.

Sonuç olarak, LTLE gibi edinilmiş olmayan fokal epilepsilerin genetik etiyojisi, mevcut nadir ve yaygın küçük varyantlar veya CNV yaklaşımlarıyla aydınlatılması en güç alanlar arasındadır. Çalışmamız, LTLE'nin etiyojisinin heterojen olabileceğini göstermekte ve *LG11* patojenik varyantları saptanmayan, ancak işitsel özelliklere sahip otozomal dominant epilepsili ailelerde epilepsiye yatkınlık ve otozomal dominant kalıtım ile ilişkili çeşitli genlerin etkisini ortaya koymaktadır.

Teşekkür: Yazarlar, bu çalışmaya katılan hastalara teşekkürlerini sunarlar.

Etik Komite Onayı: Çalışma protokolü İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 10 Nisan 2023 tarihinde 2023/684 dosya numarası ile onaylanmıştır.

Bilgilendirilmiş Onam: Tüm hastalardan bilgilendirilmiş rıza formu alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir- BS, YK, SS, GAU, GŞ, SUI, NB, BB; Tasarım- BS, YK, SS, GAU, SUI, BB; Denetleme- BS, YK, SS, GAU, GŞ, SUI, NB, BB; Kaynaklar- SUI, NB, BB; Malzemeler- GAU, GŞ, SUI, NB, BB; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- BS, YK, SS, GAU, GŞ, SUI, NB, BB; Analiz ve/veya Yorum- BS, GAU, SUI, BB; Literatür Taraması- BS, GAU, SUI, BB; Yazıyı Yazan- BS, GAU, SUI, BB; Eleştirel İnceleme- BS, YK, SS, GAU, GŞ, SUI, NB, BB.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) tarafından SAUI'ye verilen 2019 Üstün Başarılı Genç Bilim İnsanı Ödülü ile desteklenmiştir. Çalışmanın altyapı desteği, NoroDIAB Projesi (İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu No: 2019K12-149071) ve İSTISNA Projesi (İstanbul Kalkınma Ajansı - İSTKA No: TR10/22/THN) tarafından sağlanmıştır.

EK

https://www.noropsikiyatriarsivi.com/uploads/NPA_28894_TR_EKLER.pdf

KAYNAKLAR

- Furia A, Licchetta L, Muccioli L, Ferri L, Mostacci B, Mazzoni S, et al. Epilepsy With Auditory Features: From Etiology to Treatment. *Front Neurol*. 2021;12:807939. [Crossref]
- Michelucci R, Nobile C. Autosomal Dominant Epilepsy with Auditory Features. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1537/>
- Bisulli F, Menghi V, Vignatelli L, Licchetta L, Zenesini C, Stipa C, et al. Epilepsy with auditory features: Long-term outcome and predictors of terminal remission. *Epilepsia*. 2018;59:834–843. [Crossref]
- Kesim YF, Uzun GA, Yucesan E, Tuncer FN, Ozdemir O, Bebek N, et al. Screening *LG11* in a cohort of 26 lateral temporal lobe epilepsy patients with auditory aura from Turkey detects a novel de novo mutation. *Epilepsy Res*. 2016;120:73–78. [Crossref]
- Dazzo E, Rehberg K, Michelucci R, Passarelli D, Boniver C, Vianello Dri V, et al. Mutations in *MICAL-1* cause autosomal-dominant lateral temporal epilepsy. *Ann Neurol*. 2018;83:483–493. [Crossref]
- Dazzo E, Santulli L, Posar A, Fattouch J, Conti S, Lodén-van Straaten M, et al. Autosomal dominant lateral temporal epilepsy (ADLTE): novel structural and single-nucleotide *LG11* mutations in families with predominant visual auras. *Epilepsy Res*. 2015;110:132–138. [Crossref]
- Kalachikov S, Evgrafov O, Ross B, Winawer M, Barker-Cummings C, Martinelli Boneschi F, et al. Mutations in *LG11* cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nat Genet*. 2002;30:335–341. [Crossref]
- Bisulli F, Rinaldi C, Pippucci T, Minardi R, Baldassari S, Zenesini C, et al. Epilepsy with auditory features: Contribution of known genes in 112 patients. *Seizure*. 2021;85:115–118. [Crossref]
- Pippucci T, Licchetta L, Baldassari S, Palombo F, Menghi V, D'Aurizio R, et al. Epilepsy with auditory features: A heterogeneous clinico-molecular disease. *Neurol Genet*. 2015;1:e5. [Crossref]
- Feng Y-CA, Howrigan DP, Abbott LE, Tashman K, Cerrato F, Singh T, et al. Ultra-Rare Genetic Variation in the Epilepsies: A Whole-Exome Sequencing Study of 17,606 Individuals. *The American Journal of Human Genetics*. 2019;105:267–282. [Crossref]
- Leu C, Stevelink R, Smith AW, Goleva SB, Kanai M, Ferguson L, et al. Polygenic burden in focal and generalized epilepsies. *Brain*. 2020;143:e61. [Crossref]
- Stevelink R, Luyck JJ, Lin BD, Leu C, Lal D, Smith AW, et al. Shared genetic basis between genetic generalized epilepsy and background electroencephalographic oscillations. *Epilepsia*. 2021;62:1518–1527. [Crossref]
- Pedersen BS, Quinlan AR. Mosdepth: quick coverage calculation for genomes and exomes. *Bioinformatics*. 2018;34:867–868. [Crossref]
- McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GR, Thormann A, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. 2016/06/06 ed. Vol. 17, *Genome Biol*. 2016. p. 122. [Crossref]

15. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, Marshall J, Ohan V, Pollard MO, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*. 2021;10:giab008. [[Crossref](#)]
16. Manichaikul A, Mychaleckyj JC, Rich SS, Daly K, Sale M, Chen W-M. Robust relationship inference in genome-wide association studies. *Bioinformatics*. 2010;26:2867–2873. [[Crossref](#)]
17. Heyne HO, Singh T, Stamberger H, Abou Jamra R, Caglayan H, Craiu D, et al. De novo variants in neurodevelopmental disorders with epilepsy. *Nat Genet*. 2018;50:1048–1053. [[Crossref](#)]
18. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405–423. [[Crossref](#)]
19. Li Q, Wang K. InterVar: Clinical Interpretation of Genetic Variants by the 2015 ACMG-AMP Guidelines. *The American Journal of Human Genetics*. 2017;100:267–280. [[Crossref](#)]
20. Moretti R, Arnaud L, Bouteiller D, Trouillard O, Moreau P, Buratti J, et al. SCN1A-related epilepsy with recessive inheritance: Two further families. *Eur J Paediatr Neurol*. 2021;33:121–124. [[Crossref](#)]
21. Ding J, Li X, Tian H, Wang L, Guo B, Wang Y, et al. SCN1A Mutation—Beyond Dravet Syndrome: A Systematic Review and Narrative Synthesis. *Front Neurol*. 2021;12:743726. [[Crossref](#)]
22. Sunkin SM, Ng L, Lau C, Dolbeare T, Gilbert TL, Thompson CL, et al. Allen Brain Atlas: an integrated spatio-temporal portal for exploring the central nervous system. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D996–1008. [[Crossref](#)]
23. Fridman H, Yntema HG, Mägi R, Andreson R, Metspalu A, Mezzavila M, et al. The landscape of autosomal-recessive pathogenic variants in European populations reveals phenotype-specific effects. *Am J Hum Genet*. 2021;108:608–619. [[Crossref](#)]
24. Niturad CE, Lev D, Kalscheuer VM, Charzewska A, Schubert J, Lerman-Sagie T, et al. Rare GABRA3 variants are associated with epileptic seizures, encephalopathy and dysmorphic features. *Brain*. 2017;140:2879–2894. [[Crossref](#)]
25. Amendola LM, Muenzen K, Biesecker LG, Bowling KM, Cooper GM, Dorschner MO, et al. Variant Classification Concordance using the ACMG-AMP Variant Interpretation Guidelines across Nine Genomic Implementation Research Studies. *Am J Hum Genet*. 2020;107:932–941. [[Crossref](#)]
26. De Fusco M, Becchetti A, Patrignani A, Annesi G, Gambardella A, Quattrone A, et al. The nicotinic receptor beta 2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet*. 2000;26:275–276. [[Crossref](#)]
27. Kurahashi H, Hirose S. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1169/>
28. Cadieux-Dion M, Meneghini S, Villa C, Toffa DH, Wickstrom R, Bouthillier A, et al. Variants in CHRN2 and CHRNA4 Identified in Patients with Insular Epilepsy. *Can J Neurol Sci*. 2020;47:800–809. [[Crossref](#)]
29. Bartoňová M, Tournier J-D, Bartoň M, Řiha P, Vojtíšek L, Mareček R, et al. White matter alterations in MR-negative temporal and frontal lobe epilepsy using fixel-based analysis. *Sci Rep*. 2023;13:19. [[Crossref](#)]
30. Brodtkorb E, Gu W, Nakken KO, Fischer C, Steinlein OK. Familial temporal lobe epilepsy with aphasic seizures and linkage to chromosome 10q22-q24. *Epilepsia*. 2002;43:228–235. [[Crossref](#)]