

Genetika epilepsií a súčasné možnosti ich genetickej diagnostiky

Mgr. Natália Forgáčová^{1,2,3}, Mgr. Ingrid Lojová^{1,2,3}, RNDr. Ján Radvánszky, PhD.^{1,2,3,4}, Mgr. Andrea Zatková, PhD.¹

¹Ústav klinického a translačného výskumu BMC SAV, Bratislava

²Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

³Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

⁴G2 Consulting Slovakia s. r. o., Hviezdoslavov

Epilepsia je komplexné neurologické ochorenie, ktoré postihuje 40 – 60 miliónov ľudí na celom svete. V patogenéze epilepsie zohrávajú významnú úlohu viaceré genetické faktory, čo vedie k rastúcemu významu genetiky v oblasti epileptológie. S rozvojom metodík využívajúcich masívne paralelné sekvenovanie boli identifikované mnohé DNA varianty spôsobujúce epilepsiu, čím sa zlepšuje naše chápanie molekulárnych mechanizmov súvisiacich s klinickými prejavmi geneticky podmienených epilepsií. V tejto práci ponúkame prehľad súčasných, ale aj budúcich možností genetickej diagnostiky epilepsie, ktorá prostredníctvom určenia génových variantov u pacientov s monogénovou aj polygénovou epilepsiou môže otvoriť cestu k cielenej personalizovanej diagnostike a liečbe.

Kľúčové slová: epilepsia, DNA diagnostika, celoexómové sekvenovanie, celogenómové sekvenovanie.

Genetics of epilepsies and current possibilities of their genetic diagnostics

Epilepsy is a complex neurological disease that affects 40–60 million people worldwide. Multiple genetic factors play a significant role in the pathogenesis of epilepsy, leading to the growing importance of genetics in the field of epileptology. With the development of methodologies using massively parallel sequencing, many DNA variants causing epilepsy have been identified, improving our understanding of the molecular mechanisms involved in the clinical manifestations of genetically determined epilepsies. In this paper, we offer an overview of current but also future possibilities for genetic diagnostics of epilepsy, which, by identifying gene variants in patients with both monogenic and polygenic epilepsy, may open the way to targeted personalized diagnosis and treatment.

Key words: epilepsy, DNA diagnostics, whole-exome sequencing, whole-genome sequencing.

Úvod

Epilepsia je jedným z najčastejších chronických neurologických ochorení, postihuje približne 0,5 – 1 % svetovej populácie (Borowicz-Reutt, Czernia et Krawczyk, 2023). Hoci sa diagnóza epilepsie opiera o prítomnosť záchvatov, zahŕňa skupinu fenotypovo a etiologicky rôznych porúch,

pri ktorých môžu byť záchvaty len jedným z mnohých príznakov. Epilepsie sú charakterizované na základe veku nástupu, typu záchvatov, elektroencefalogramu (EEG) a ďalších zobrazovacích vyšetrení. Medzinárodná liga proti epilepsii (ILAE – International League Against Epilepsy) ich rozdeľuje podľa typu záchvatov na: a) fokálne epilepsie (FE)

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest:

Not applicable.

Consent for publication:

Not applicable.

Podakovanie: Táto práca vznikla s podporou grantov VEGA-2/0114/24 a VEGA-2/0146/23.

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2025;26(1):9-16
<https://doi.org/10.36290/neu.2024.062>

Článok prijat redakci: 2. 7. 2024

Článok prijat k publikaci: 10. 9. 2024

Mgr. Andrea Zatková, PhD.
andrea.zatkova@savba.sk

(tvoria asi 60 % epilepsií), b) generalizované epilepsie (GE) (asi 40 % epilepsií), a c) generalizované a fokálne epilepsie, s osobitnou kategóriou pre vývojové a/alebo epileptické encefalopatie (DEE). Tradične sa epileptické syndrómy zoskupujú tiež podľa veku pacienta pri nástupe ochorenia, a to: syndrómy so začiatkom u novorodencov a dojčiat (do veku dvoch rokov), syndrómy so začiatkom v detstve a syndrómy, ktoré sa môžu začať v rôznom veku (teda u detských aj dospelých pacientov). Hoci sú známe rôzne faktory, ktoré prispievajú k vzniku epilepsie (štrukturálne, metabolické, infekčné, súvisiace s imunitou), genetická variabilita môže vysvetľovať až dve tretiny prípadov (Johannesen et al., 2023), a práve genetike epilepsií sa bližšie venuje táto práca. Vďaka metodikám založeným na masívnom paralelnom sekvenovaní (MPS – massively parallel sequencing) boli už opísané mnohé varianty spôsobujúce rôzne formy epilepsie, najmä monogénové. Napriek tomu, že tieto metodiky zabezpečujú vysokú diagnostickú spoľahlivosť (45 – 48 %), stále zostáva mnoho pacientov geneticky neobjasnených (Krey et al., 2022). Pokroky sa však dosahujú aj v oblasti identifikácie lokusov a variantov, ktoré prispievajú k polygénovým a komplexným formám epilepsií, kde je genetické hodnotenie odlišné od monogénových foriem. Je preto potrebné naďalej vyvíjať diagnostické technológie schopné lepšie zachytiť komplexnú genetickú etiológiu epilepsie. Publikácia tiež poskytuje systematický prehľad metodík genetickej diagnostiky epilepsií, ktoré môžu byť využité u pacientov s neobjasnenou príčinou tohto ochorenia.

Genetický základ epilepsie – súčasné poznatky

Geneticky podmienené epilepsie, spadajúce do rôznych kategórií podľa klasifikácie ILAE, sú charakteristické buď monogénovou, alebo komplexnejšou dedičnosťou, oligogénovou či polygénovou, s možným príspevkom environmentálnych alebo epigenetických faktorov (Scheffer et al., 2017; Krey et al., 2022). Epigenetické zmeny, ako napríklad metylácia DNA a modifikácie histónov, môžu tiež interagovať s genetickými variantmi a ovplyvňovať vznik a závažnosť ochorenia.

Súhrnne malé percento genetických epilepsií tvoria monogénové epilepsie, ktoré sú najčastejšie spojené so skorším nástupom a závažnejšími klinickými prejavmi (Guerrini et al., 2021). V závislosti od postihnutého génu sa môžu monogénové formy epilepsie dediť autozomálne dominantným, autozomálne recesívnym alebo X-viazaným spôsobom. Genetické testovanie odhalilo početné gény zapojené do monogénových epilepsií, v ktorých sa obyčajne identifikujú veľmi zriedkavé zdedené alebo *de novo*, teda nezdedené, patogénne varianty s veľkým účinkom. Typickým príkladom monogénovej formy epilepsie je napr. Dravetovej syndróm, ktorý je vo viac ako 85 % prípadov spôsobený variantmi v géne *SCN1A* (Gonsales et al., 2019). Priebežne aktualizovaný a kontrolovaný zoznam rizikových génov a variantov, ktoré sú asociované s monogénovými formami epilepsie, je k dispozícii prostredníctvom Genes4Epilepsy (Oliver et al., 2023).

Oligo-/polygénové epilepsie sú dôsledkom kombinovaného účinku variantov (aj bežných) vo viacerých génoch, z ktorých každý prispieva k celkovému riziku (polygénové riziko). Sem môžeme zaradiť genetické generalizované epilepsie (GGE) či rôzne typy FE (Leu et al., 2019). Novšie práce ukázali, že bežné genetické varianty prispievajú k DEE aj v prípadoch, keď bola identifikovaná predpokladaná monogénová príčina. Toto ilustruje, že hoci v prípade niektorých DEE, aj keď je známy patogénny variant s významným účinkom indikujúci monogénovú dedičnosť, ich genetické pozadie je v skutočnosti komplexnejšie, čo môže prispievať k modifikácii fenotypu (Campbell et al., 2022). Navyše, pri niektorých je situácia ešte komplikovanejšia v dôsledku kombinácie genetických, epigenetických a negenetických faktorov, ako úrazy hlavy, infekcie alebo vývojové problémy. Niektoré príklady monogénovo a polygénovo podmienených epilepsií a príslušné gény uvádzame v Tabuľke 1.

Z funkčného pohľadu sa pri epilepsiách často vyskytujú varianty v génoch kódujúcich rôzne podjednotky iónových kanálov (napr. sodíkové, draslíkové, vápnikové kanály) (Oyler et al., 2018) alebo v génoch kódujúcich neurotransmitterové receptory (napr. GABA, glutamátové receptory) (Obr. 1A) (Maillard et

al., 2022). Varianty v génoch, ktoré sa podieľajú na rôznych signálnych dráhach, synaptickej funkcii, uvoľňovaní neurotransmitterov a synaptickej plasticite (Obr. 1B a 1C), tiež môžu ovplyvniť náchylnosť na záchvaty, kým iné genetické epilepsie sú spojené s metabolickými poruchami ovplyvňujúcimi energetický metabolizmus mozgu (Rastin, Schenkel a Sadikovic, 2023). Okrem toho boli pri monogénových epilepsiách identifikované veľmi zriedkavé varianty v génoch zapojených do rôznych biologických procesov, ako je transkripcia, oprava DNA, modulácia proteínov, bunková proliferácia a diferenciácia, prenos buniek a homeostáza extracelulárnej matrice (Obr. 1D) (Perucca, Bahlo et Berkovic, 2020).

Jednou z výziev pri identifikácii genetickej príčiny u pacientov s epilepsiou je genetická aj fenotypová heterogenita. Genetická heterogenita znamená, že podobná klinická prezentácia alebo fenotyp sú spôsobené rôznymi genetickými mechanizmami alebo variantmi v rôznych génoch (Bayat et al., 2021). Pri epilepsiách sa navyše stretávame s variabilnou penetranciou, čo znamená, že nie u všetkých jedincov s rovnakým patogénnym variantom sa epilepsia vyvinie. Naopak, fenotypová heterogenita znamená, že varianty v rovnakom géne vedú k rôznym fenotypom epilepsie (Symonds, Zuberi et Johnson, 2017). Toto má často aj klinické implikácie, nakoľko rôzne DNA varianty v rámci toho istého génu môžu indukovať syntézu rôznych foriem dysfunkčného proteínu, čo okrem rozdielov v klinických prejavoch epilepsie často vedie aj k rôznym odpovediam na lieky. Napríklad blokátory sodíkových kanálov sú účinné u pacientov s variantmi vedúcimi k získaniu funkcie (GoF) v génoch *SCNA2* a *SCN8A*, naopak táto trieda liekov proti záchvatom môže zhoršovať záchvaty spôsobené variantmi vedúcimi k strate funkcie (LoF) v *SCNA1* a *SCN2A*.

Identifikácia kauzálneho génu a variantu/-ov môže usmerniť výber liekov proti záchvatom až u 76 % malých detí s epilepsiou (u ktorých sa vyskytla epilepsia pred 36. mesiacom života), pričom aj u dospelých viedla zmena liečby v dôsledku genetickej diagnózy po rokoch rezistencie na lieky k zlepšeniu záchvatov a kvality života (Krey et al., 2022). Význam presnej genetickej diagnózy pri epilepsiách je tak už všeobecne uznávaný.

Tab. 1. Niektoré formy monogénových a polygénových epilepsií, s uvedením formy dedičnosti, zodpovedných génov a ich lokalizácie. Rozdelenie epilepsií v tejto tabuľke je so zameraním na formu dedičnosti, pričom klasifikácia ILAE je uvedená v poslednom stĺpci. Vedomosti o asociovaných génoch neustále pribúdajú, preto je tabuľka len orientačná. U monogénových foriem už jeden variant v jednom z uvedených génov vedie k ochoreniu. Evidentná je genetická heterogenita, t.j. podobný fenotyp môže byť spôsobený variantmi v rôznych génoch. Pravidelne aktualizovaný zoznam génov (k 10. 9. 2024 ich je 997) a variantov, ktoré sú asociované s monogénovými formami epilepsie je tiež k dispozícii na stránke Genes4Epilepsy (Oliver et al., 2023). V prípade polygénových epilepsií k celkovému riziku prispieva viac génov, ich genetika je komplexná. Často sú u nich prítomné zriedkavé varianty v uvedených génoch ale súčasne aj bežné varianty v iných génoch, ktoré prispievajú k celkovému riziku ochorenia. Pre aktuálny prehľad génov a variantov (aj bežných) asociovaných s týmito formami epilepsií odporúčame konzultovať vhodné on-line databázy, ako je aj napr. NHGRI-EBI GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Tu uvedené zoznamy génov ku konkrétnym typom epilepsií sú uvedené podľa údajov z ORPHANET (<https://www.orpha.net/en/disease/gene>) a ILAE (<https://www.ilae.org/>), ako aj podľa dostupnej literatúry (august 2024). AD: autozomálne dominantná, FE: fokálne epilepsie, GE: generalizované epilepsie, DEE: vývojové epileptické encefalopatie

Monogénové formy epilepsie				
	Dedičnosť	Gény	Lokalizácia	ILAE klasifikácia
Familiárna neonatálna/neonatálno-infantilná epilepsia so spontánnou remisiou (SeLNE/SeLNIE)	AD	SCN2A KCNQ2 KCNQ3	2q24-q31 20q13.3 8q24	FE
Familiárna detská epilepsia so spontánnou remisiou (SeLIE)	AD	PRRT2 SCN2A KCNQ2	16p11.2 2q24-q31 20q13.3	FE
Generalizovaná epilepsia s febrilnými záchvatmi/plus (GEFS+)	AD	SCN1B SCN1A SCN2A GABRG2 GABRD SCN9A	19q13.12 2q24.3 2q24-q31 5q34 1p36.3 2q24	GE
AD hypermotorická epilepsia viazaná na spánok (ADSHE)	AD	CHRNA4 CHRN2 CHRNA2 KCNT1 DEPDC5 CRH CABP4	20q13.33 1q21.3 8p21 9q34.3 22q12.3 8q13 11q13.2	FE
Dravetovej syndróm	AD	SCN1A (85%) SCN1B SCN2A GABRG2 GABRA1 STXB1	2q24.3 19q13.12 2q24-q31 5q34 5q34 9q34.11	DEE
Komplexné polygénové formy epilepsie				
Juvenilná myoklonická epilepsia (JME)	komplexná	GABRA1 CACNB4 CLCN2 CILK1 GABRD JRK KCNQ3	5q34 2q22.1 3q27.1 1p36.31 1p36.33 8q24.3 8q24.22	GE
Detská absenčná epilepsia (CEA)	komplexná	CACNA1H GABRA1 GABRB3 GABRG2 JRK SLC2A1	16p13.3 5q34 15q12 5q34 8q24.3 1p34.2	GE
Juvenilná absenčná epilepsia (JAE)	komplexná	CACNB4 EFHC1 CLCN2 GABRA1	2q22.1 6p12.3 3q27.1 5q34	GE
Epilepsia s centrotemporálnymi hrotmi so spontánnou remisiou (SeLECTS)	komplexná	SRPX2 GRIN2A GABRG2	Xq22.1 16p13.2 5q34	FE
Epilepsia spánkového laloku (TLE)	komplexná	LGI1 RELN SCN1A SCN2A DEPDC5	10q23.33 7q22.1 2q24.3 2q24-q31 22q12.3	FE

Genetické zmeny pozorované pri jednotlivých typoch epilepsií môžu byť pomerne jednoduché, ako sú substitúcie jedného páru báz (SNV – single nucleotide variants) či malé inzercie a delécie, prípadne zmeny mikrosatelitových motívov, ale aj rozsiahlejšie, ako rôzne štrukturálne varianty (SV – structural variants) či aneuploidie a duplikácie zahŕňajúce celé chromozómy. Aj z geneticko-diagnostického hľadiska je teda epilepsia mimoriadne komplexné ochorenie, ktoré navyše môže byť súčasťou zložitejšej diagnózy (Chen et Mefford, 2021).

Metodiky používané pri genetickej diagnostike epilepsií

K dispozícii sú rôzne metodiky na vyšetrenie genetickej príčiny epileptických porúch, pričom je potrebné pochopiť výhody a obmedzenia jednotlivých testov aj interpretácie výsledkov, ktoré musia integrovať informácie o genotype aj fenotype. Rozvoj techník spojených s MPS aj pri epilepsii umožnil rýchly posun od úzko špecificky použiteľných nástrojov (napr. fluorescenčná *in situ* hybridizácia (FISH) a testovanie jedného génu Sangerovým sekvenovaním), chromozómovej mikročipovej analýzy (CMA – chromosomal microarray analysis) k cieleným multi-génovým sekvenáčnym panelom, sekvenovaniu exómu (WES – whole exome sequencing) či sekvenovaniu genómu (WGS – whole genome sequencing) (Krey et al., 2022). Väčšina súčasných metód na analýzu dát z WES/WGS dokáže úspešne identifikovať takmer všetky typy genetických zmien, ktoré môžu byť príčinou epilepsie, a preto sa tieto metódy stali prioritne používanými. Avšak, v niektorých prípadoch je na doplnenie diagnózy potrebné použiť aj iné techniky, ktoré svojimi špecifickými vlastnosťami poskytujú ďalšie možnosti na odhalenie genetického pozadia epileptických syndrémov. V Tabuľke 2 ponúkame ich detailnejší prehľad.

Cytogenetická analýza – karyotypizácia

Hoci vo všeobecnosti sú už tieto metódy nahradené modernejšími prístupmi, karyotypizácia alebo FISH analýza môžu byť stále užitočné, pretože lepšie identifikujú väčšie SV, ako sú translokácie, inverzie či kruhový chromozóm 20 (často prítomný vo forme mozaiky). To je zvlášť dôležité u pacientov s epilepsiou a mentálnym postihnutím, ktorí

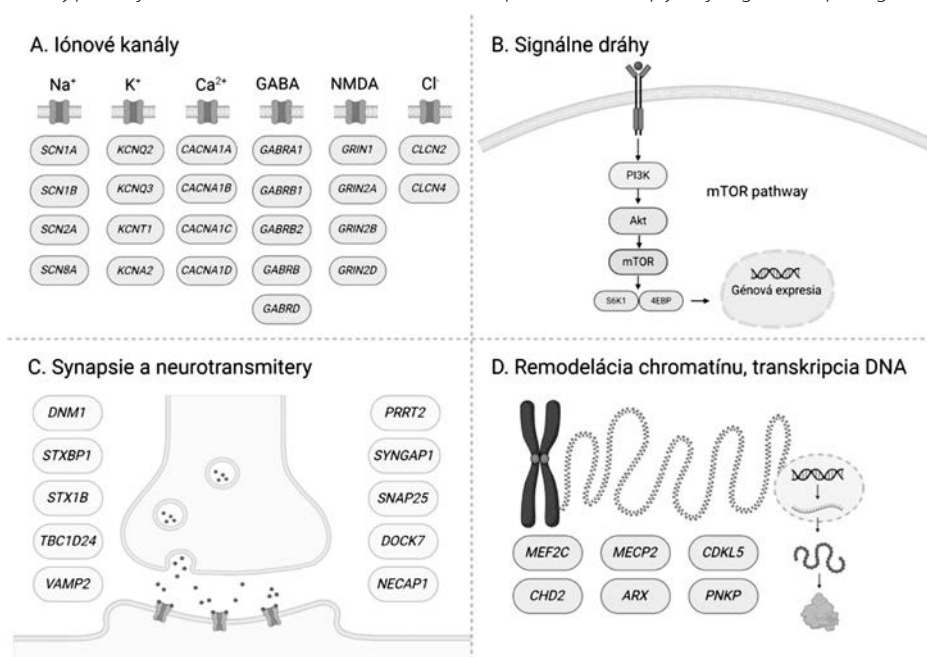
Obr. 1. Ilustrácia niektorých patogénnych mechanizmov pri bežných epilepsiách (upravené a aktualizované podľa Ellis, Petrovski et Berkovic, 2020)

A) Varianty v génoch kódujúcich iónové kanály, ako sú rôzne podjednotky sodíkových, draslíkových či vápníkových kanálov, ako aj v receptoroch GABA (gamma-aminobutyric acid), ktoré zohrávajú významnú úlohu pri regulácii excitability neurónov a udržiavaní rovnováhy medzi excitáciou a inhibíciou v mozgu, ako aj v NMDA (N-methyl-D-aspartate), čo je druh glutamátového receptora, ktorý zohráva kľúčovú úlohu v synaptickom prenose, plasticite a excitotoxicite v mozgu.

B) Varianty v génoch zapojených do dráhy mTOR (mammalian target of rapamycin) spôsobujú ochorenia často označované ako mTORopatie. Patria sem napríklad gény komplexu tuberóznej sklerózy (TSC1 alebo TSC2) alebo aj varianty v géne DEPDC5 spojené s familiárnou FE a epilepsiou s premenlivými ložiskami.

C) Gény súvisiace so správnym fungovaním synapsií a uvoľňovaním neurotransmiterov, nakoľko poruchy synaptickej inhibície počas vývoja mozgu môžu viesť k hyperexcitabilite neurónov a vzniku epilepsie.

D) Gény podieľajúce sa na remodelácii chromatinu či transkripcii DNA, ktoré ovplyvňujú reguláciu expresie génov.



majú tiež dysmorfické znaky alebo u ktorých nie je možné jednoznačne určiť konkrétny epileptický syndróm (Krey et al., 2022).

Chromozómová mikročipová analýza (CMA)

CMA, známa aj ako array CGH, dokáže v rámci celého genómu efektívne odhaliť klinicky významné zmeny počtu kópií úsekov DNA (CNV – copy number variations), ktoré môžu ovplyvňovať fyziológiu a funkciu organizmu. CMA poskytuje submikroskopické rozlíšenie, čiže umožňuje vizualizovať aj oblasti, ktoré by klasická karyotypizácia nedokázala odhaliť. Prvým významným objavom bola delécia 15q13.3 u pacientov s GGE, pričom v menšej miere sa táto delécia vyskytuje aj u pacientov s mentálnym postihnutím, poruchou autistického spektra a schizofréniou. U približne 1 % pacientov s GGE boli tiež nájdené delécie 15q11.2 a 16p13.11, ktoré sú príležitostne prítomné aj u pacientov s inými formami epilepsie (Mefford, 2015). Celkovo sú CNV príčinou

5–10 % detských epilepsií vrátane vývojových a epileptických encefalopatií (Hebbar et Mefford, 2020), ich identifikácia je preto pri diagnostike epilepsií dôležitá, či už s použitím CMA, alebo pomocou vhodného nastavenia analýz WES/WGS dát, ako je uvedené nižšie.

Sangerovo sekvenovanie špecifických génov

Analýza konkrétneho génu/exónu pomocou tradičného Sangerovho sekvenovania sa v klinickej diagnostike dlhodobo používa hlavne pri analýzach už známych variantov, ktoré sa dedia v rodine. V prípade potreby identifikácie neznámej genetickej príčiny monogénovej epilepsie, ako aj pri polygénových formách ochorenia bola táto metóda prekonaná MPS prístupmi (pozri Tab. 2).

Metodiky využívajúce masívne paralelné sekvenovanie (MPS)

MPS, často označované aj ako sekvenovanie novej generácie (NGS – next generation

sequencing), označuje celý rad moderných sekvenačných technológií, ktoré umožňujú rýchle a vysokovýkonné simultánne sekvenovanie miliónov krátkych fragmentov DNA a RNA. Dve najbežnejšie aplikácie MPS sú: a) cielečné sekvenovanie vybraných genomických oblastí vo forme ochorenia špecifických génových panelov alebo WES, b) WGS.

Cielené multigénové MPS panely

V súčasnosti je k dispozícii mnoho komerčných génových panelov pre epilepsiu. Niektoré z nich sú navrhnuté špeciálne pre určité podtypy epilepsie, ako je progresívna myoklonická epilepsia alebo familiárna fokálna epilepsia, pričom tieto panely obsahujú len niekoľko génov; iné sú komplexnejšie a zahŕňajú stovky génov. Niekoľko nedávnych štúdií uvádza, že diagnostický výťažok génového panelu obsahujúceho ~ 40–80 génov je v rozmedzí od 15 do 28,5 %. Vyššia výťažnosť sa pozorovala u mladších pacientov (23,2–52 %) a u pacientov s epileptickou encefalopatiou (50,6 %) (Chen a Mefford, 2021). Nevýhodou týchto panelov je ich závislosť od vedomostí v čase, keď boli navrhnuté. Ak bola určitá genetická súvislosť opísaná neskôr, príslušné gény v týchto paneloch nie sú zahrnuté, čiže ich nie je možné ani analyzovať, v dôsledku čoho diagnostický potenciál takýchto testov môže časom klesať.

Sekvenovanie celého exómu (WES)

Mnohé obmedzenia génových panelov (Tab. 2) sú prekonané metodikou WES, ktorá sa zameriava na proteín kódujúce časti (exóny) takmer všetkých známych génov. Tie predstavujú približne 2 % ľudského genómu. Najväčší potenciál WES je v diagnostike monogénových foriem epilepsií, pričom jeho celková diagnostická účinnosť je medzi 22 až 59 % a ešte vyššia je u detských pacientov s mentálnym postihnutím alebo včasnou epileptickou encefalopatiou (Helbig et al., 2016; Krey et al., 2022; Habela, Schatz et Kelley, 2024). Štúdia Helbig et al. tiež ukázala, že analýza WES identifikovala patogénny alebo pravdepodobne patogénny variant u 25 % pediatrických pacientov, u ktorých CMA a/alebo génové panely nedokázali určiť genetickú etiológiu. Navyše WES často prispieva

Tab. 2. Prehľad využitia jednotlivých metódik používaných na diagnostiku genetického pozadia epilepsií s ich výhodami a limitmi aj z historického hľadiska. Diagnostická účinnosť je uvádzaná podľa údajov v prácach (Habela, Schatz et Kelley, 2024; Helbig et al., 2016; Krey et al., 2022)

Metodika	Využitie	Diagnostická účinnosť	Výhody	Nevýhody
Sangerovo sekvenovanie	<ul style="list-style-type: none"> ■ Potvrdenie variantu identifikovaného inou metódou ■ Overenie segregácie v rodine ■ Nie je vhodné ako prioritná metóda u pacientov s nejasnou etiológiou 	Vysoká pri použití na potvrdenie variantu alebo pri overení segregácie	<ul style="list-style-type: none"> ■ Rýchlosť testu a nízke náklady ■ Identifikácia SNV a malých indelov 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Analýza len jedného génu, čiže nízka diagnostická účinnosť v prípade použitia u epilepsií nejasnej etiológie ■ Riziko prehliadnutia variantov v iných génoch ■ Chybovosť PCR, falošná negativita ■ Nezahŕňa identifikáciu CNV, SV, expanzií mikrosatelitov
Cytogenetická analýza – karyotypizácia, FISH	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identifikácia veľkých štruktúrnych a numerických chromozomálnych abnormalít ■ Nie je vhodné ako prioritná metóda u pacientov s nejasnou etiológiou 	Nízka	<ul style="list-style-type: none"> ■ Detekcia veľkých CNV, translokácií, inverzií, delécií a duplikácií (FISH) ■ Rýchlosť analýz a nízke náklady 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Nízka rozlišovacia schopnosť ■ Neodhalí SNV, indely, mikrosatelity
Chromozómová mikročipová analýza (CMA)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identifikácia CNV ■ Odporúčané hlavne u pacientov s neneurologickými abnormalitami, intelektuálnou disabilitou a dysmorfickými znakmi 	3 – 15 %	<ul style="list-style-type: none"> ■ Rýchla detekcia CNV (aj na úrovni celého genómu) ■ Rýchlosť testu a nižšie náklady 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Variabilná rozlišovacia schopnosť – závislá od typu a hustoty prôb na čípe (ak sú použité tzv. BAC próby – schopné detekovať CNV väčšie ako 100 kb, ak oligonukleotidové próby – detekcia CNV okolo 50 – 100 kb, v závislosti od ich hustoty) ■ Neodhalí SNV, indely, expanzie mikrosatelitov, SV
Génové panely	<ul style="list-style-type: none"> ■ Cílené sekvenovanie konkrétnych génov so známou asociáciou s epilepsiou 	19 – 39 % (až 54 % v prípade epilepsií s malformáciami mozgu)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identifikácia SNV a malých indelov ■ Identifikácia <i>de novo</i> variantov ■ Dobré pokrytie testovaných sekvencií ■ Výsledky sú často ľahšie interpretovateľné ako v prípade WES/WGS, nie sú sekundárne zistenia ■ Rýchlosť testu a nižšie náklady 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Neodhalí genetické varianty mimo génov zvoleného panelu ■ CNV a expanzie mikrosatelitov v zahrnutých génoch identifikuje len s určitými limitáciami pri dobrom nastavení a so špecializovaným bioinformatickým nástrojom. ■ Rôzne laboratória majú génové panely pre podobné fenotypy, ktoré však pozostávajú z rôznych súborov génov
Celoexómové sekvenovanie (WES)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Vhodné ako prioritná metóda u pacientov s nejasnou etiológiou, hlavne u DEE ■ Identifikácia variantov v kódujúcich oblastiach genómu ■ Odporúčané aj u pacientov s nejednoznačnými klinickými príznakmi alebo s komplexnou dedičnosťou 	Do 59 %	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identifikácia SNV a malých indelov v kódujúcich oblastiach ■ Identifikácia <i>de novo</i> variantov ■ Aktuálne výhodný pomer medzi rozsahom sekvenovania a nákladmi 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Neodhalí varianty v nekódujúcich oblastiach ■ CNV, expanzie mikrosatelitov identifikuje len s určitými limitáciami pri dobrom nastavení a so špecializovaným bioinformatickým nástrojom ■ Vysoká pravdepodobnosť nájdenia VUS variantov
Celogenómové sekvenovanie (WGS)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Vhodné ako prioritná metóda u pacientov s nejasnou etiológiou ■ Sekvenovanie celého genómu pacienta ■ Výskum zriedkavých a nových genetických príčin epilepsie ■ Diagnostika pacientov s nejasnými genetickými príčinami (kde iné metódy zlyhali) ■ Odporúčané aj u pacientov s nejednoznačnými klinickými príznakmi alebo s komplexnou dedičnosťou 	Do 48 %	<ul style="list-style-type: none"> ■ Analýza takmer kompletného genómu ■ Identifikácia SNV, malých indelov, CNV, expanzií mikrosatelitov, SV (v kódujúcich aj nekódujúcich oblastiach) ■ Identifikácia <i>de novo</i> variantov ■ Možnosť použitia dát na ďalšie aplikácie, ako je napr. výpočet skóre polygénového rizika (PRS) pre polygénové a komplexné formy epilepsie 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Vysoká pravdepodobnosť nájdenia VUS variantov ■ Vysoký počet identifikovaných variantov s nejasným klinickým významom, náročná interpretácia ■ Vyššie náklady ■ Vyžaduje pokročilé bioinformatické nástroje a expertízu na analýzu veľkého množstva dát

BAC – bakteriálny umelý chromozóm; indely – spoločný názov pre inzercie a delécie; VUS – variant neznámeho významu; SV – štruktúrne varianty; PRS – skóre polygénového rizika

k objavovaniu nových génov zapojených do etiológie epilepsie, pričom tieto tvorili až 7 % génov v spomínanej veľkej kohortovej štúdií (Helbig et al., 2016). Analýza WES sa ukázala ako veľmi efektívna pri detekcii zriedkavých *de novo* variantov, prítomných iba u postihnutého dieťaťa, pomocou tzv. „TRIO“ analýzy, pri ktorej sa analyzuje postihnuté dieťa a obaja zdraví rodičia (Chen et Mefford, 2021).

Pri použití špecializovaných bioinformatických nástrojov umožňujú WES analýzy posudzovať nielen bežne hodnotené SNV a malé inzercie a delécie, ale aj menej často hodnotené varianty typu CNV alebo mikrosatelity. Výzvou však zostáva vývoj bioinformatických nástrojov, ktoré by boli schopné efektívne identifikovať a presne genotypizovať takúto skupinu variantov z WES dát, hoci sa v tejto

oblasti už dosahujú veľké pokroky (Budiš et al., 2019; Dolzhenko et al., 2019; Mousavi et al., 2019).

Najväčšou technickou limitáciou WES je, že neumožňuje identifikovať sekvenčné varianty, ktoré sa nachádzajú mimo proteín kódujúcich oblastí génov. Takými môžu byť napr. varianty, ktoré postihujú regulačné elementy génov alebo ovplyvňujú ich transkripciu

ný zozrieh a pod. Navyše, WES podobne ako génové panely nie je ideálnou metódou na identifikáciu polygénového pozadia epilepsií (napríklad pri výpočte skóre polygénového rizika uvedeného nižšie), nakoľko pri nich môžu byť klinicky relevantné aj varianty nachádzajúce sa mimo proteín kódujúcich oblastí génov.

Sekvenovanie celého genómu (WGS)

WGS umožňuje hodnotenie takmer celého genómu vrátane nekódujúcich sekvencií. Umožňuje tak odhaliť prípadné varianty v intrónoch, ktoré môžu ovplyvňovať RNA zozrieh, či varianty v promótorových a iných regulačných oblastiach, ktoré môžu mať vplyv na reguláciu génovej expresie. Z hľadiska typu sekvencných variantov predstavuje WGS najcitlivejšiu metodiku a pri použití špecializovaných bioinformatických nástrojov umožňuje hodnotiť SNV a malé indely, CNV, mikrosatelity, ale aj rôzne SV. Predstavuje tak zatiaľ najkomplexnejší prístup k hodnoteniu genetického pozadia epilepsií. V porovnaní s WES je potrebné zvážiť mierne vyššiu cenu analýz, výrazne vyššie nároky na výpočtové kapacity, ako aj na interpretáciu získaných výsledkov. Pri WGS môže byť nateraz limitujúcim faktorom tiež problematické sekvenovanie niektorých oblastí genómu, neúplnosť dostupnej sekvencie ľudského referenčného genómu a limitované vedomosti ohľadom klinického potenciálu sekvencných variantov nachádzajúcich sa mimo proteín kódujúcich oblastí génov. Preto v mnohých klinických aplikáciách je analýza WGS dát často zameraná len na exómové oblasti („pseudoexómová/panelová analýza“), nakoľko je stále náročné interpretovať efekt nekódujúcich variantov.

Na druhej strane nesie WGS v sebe potenciál na opustenie rámcov diagnostiky monogénových foriem epilepsií smerom k polygénovým a komplexným formám. Pri týchto prístupoch sa aplikujú tzv. výpočty skóre polygénového rizika (PRS – polygenic risk scores). Pri nich sa integrujú nálezy z viacerých veľkých celogenómových asociačných štúdií (GWAS – genome wide association studies), ktoré využívajú špecifické mikročipové analýzy umožňujúce súbežnú genotypizáciu veľkého počtu SNV rozložených po celom genóme. Takéto štúdie sú evidované napr. v databáze

GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Zároveň na veľkých kohortách jedincov s GGE a FE boli uskutočnené GWAS štúdie skúmajúce už úlohu bežných sekvencných variantov ako rizikových faktorov ochorenia, následne megaanalýza kombinujúca niekoľko týchto štúdií identifikovala v celom genóme 16 lokusov významných pre sledované epilepsie, pričom niektoré z nich sa nachádzajú v blízkosti známych epileptických génov alebo priamo v nich (International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies, 2018). Pri výpočte PRS osoby pre určité konkrétne ochorenie sa z WGS dát sumarizuje celkový počet variantov zvyšujúcich a znižujúcich riziko spolu s veľkosťou ich vplyvu. Na základe uvedených štúdií boli vyvinuté PRS výpočty pre FE a GGE (Leu et al., 2020). V blízkej budúcnosti môže byť dostupné testovanie genetických markerov citlivosti na hodnotenie rizika z WGS dát aj pre iné druhy epilepsie.

Súčasný limit genetického testovania epilepsií a perspektívy ich prekonania

Z dôvodu veľkej klinickej a genetickej heterogenity je pri epilepsii limitované využitie konvenčných genetických analýz, ktoré tvoria veľkú časť v súčasnosti klinicky dostupných testov a sú zamerané na individuálne gény, prípadne na rôzne veľké génové panely. Je pri nich potrebná prioritizácia génov pre gén-po-géne prístup, čo často vedie k tzv. diagnostickej odysei bez včasného uzavretia diagnózy. V tomto smere veľkým pokrokom, aspoň v prípade monogénových epilepsií, je zavedenie MPS technológií, najmä vo forme WES a WGS. Tie zlepšili našu schopnosť detegovať varianty v známych aj nových génoch a tým zvýšiť diagnostický výťažok na približne 45–48 % (Krey et al., 2022).

Limitácií je však stále niekoľko. Jednou z nich môže byť nezachytenie variantov mimo cieľovej oblasti analýz, napr. v hlbokých intrónových, medzigénových, resp. v regulačných oblastiach, čo je najtypickejšie pre menšie génové panely aj pre WES. Riešením môže byť tranzícia na WGS analýzy.

Spoločnou limitáciou všetkých analytických postupov je možnosť, že variant je síce odhalený, ale na základe nástrojov a znalostí dostupných v čase analýzy zostáva opísaný

ako variant neznámeho významu (VUS), čiže jeho klinická signifikancia je neznáma. V tomto smere sa však situácia zlepšuje, keďže genomické štúdie pribúdajú a opisuje sa klinický význam čoraz väčšieho počtu variantov. Táto limitácia preto môže byť prekonaná opätovnou analýzou a interpretáciou sekvencných údajov s odstupom času, na základe nových informácií z literatúry, nových bioinformatických nástrojov a neustále aktualizovaných databáz ochorení a variantov. Predchádzajúce štúdie ukázali, že opätovná analýza údajov WES a WGS môže zvýšiť diagnostický výťažok o 5 % až 26 % (Johannesen et al., 2023).

Postupne pribúdajú informácie aj o variantoch nachádzajúcich sa mimo proteín kódujúcich oblastí, čo v budúcnosti má potenciál ďalej zvyšovať diagnostický výťažok, a to špecificky pri WGS. Pre presnejšiu funkčnú interpretáciu variantov identifikovaných v intrónoch a odhalenie ich prípadného vplyvu na zozrieh mRNA môžu poslužiť novovyvíjané nástroje na hodnotenie variantov v nekódujúcich častiach genómu (Zhou et Troyanskaya, 2015; Kurosawa et al., 2023), ako aj hodnotenie transkriptómu pomocou sekvenovania RNA (RNA-seq), ktoré v posledných rokoch nachádza uplatnenie v klinickej diagnostike (Johannesen et al., 2023). Táto metodika tiež deteguje zmeny génovej expresie a expresiu dlhých nekódujúcich RNA (lncRNAs), ktoré by mohli zodpovedať otázkam ohľadom chýbajúcej dedičnosti epilepsií.

Určitou limitáciou pre WES aj WGS môže byť aj to, že použité bioinformatické nástroje nepodporujú identifikáciu a interpretáciu dostatočne širokej palety možných typov sekvencných zmien z MPS dát (napr. CNV, mikrosatelity, prípadne iné SV). Dnes sú dostupné špecializované bioinformatické postupy, ktoré umožňujú tieto limitácie prekonať, je však potrebné stále viac ich zahrnúť do rutinného použitia pri interpretovaní a hodnotení WES/WGS dát.

Potrebný je naďalej aj vývoj stále nových a efektívnejších nástrojov, ktoré poskytnú riešenia pre špecifika analýzy určitých druhov variantov, ako sú expanzie či iné zmeny tandemových repetícií (TR). Napríklad pri genetickej determinácii familiárnych adultných myoklonických epilepsií (FAME) zohrávajú úlohu veľmi špecifické zmeny mikrosatelitových

motívov v génoch *SAMD12*, *STARD7*, *MARCHF6*, *YEATS2*, *TNRC6A* alebo *RAPGEF2*. Vo všetkých šiestich génoch sa expanzie pentaméru TTTTA vyskytujú v intrónových oblastiach, pričom patogénne alely majú aj inzerciu TTCA (Corbett et al., 2023). Na ich odhalenie sú potrebné WGS dáta (pokrývajú intróny), ako aj citlivé nástroje schopné odhaliť tieto zmeny repetícií.

U niektorých pacientov môže byť epilepsia spôsobená variantmi, ktoré sú prítomné len v určitom špecifickom tkanive a nie sú detegovateľné v periférnej krvi (ktorá sa pri DNA diagnostike bežne používa). Takáto situácia nastáva, keď k vzniku variantu dôjde počas embryonálneho vývoja alebo neskôr v živote, pričom v závislosti od načasovania a umiestnenia sa variant nachádza len v určitom špecifickom tkanive. Odhalenie výskytu týchto variantov je tiež diagnostickou výzvou. Nedostupnosť mozgového tkaniva na identifikáciu týchto somatických variantov je možné prekonať analýzou bezbunkovej DNA (cfDNA) v cerebrospinálnej tekutine (Ye et al., 2021).

Navyše, pri charakterizácii genomického pozadia epilepsií je nevyhnutné počítať aj s iným rozmerom komplexnosti determinácie fenotypu, napr. s nemendelskými formami ochorenia, akými sú oligo-/polygénové či komplexné formy s významným zapojením environmentálnych faktorov. V týchto prípadoch sa WGS analýzy tiež javia ako nevyhnutné, pričom je potrebné hodnotiť výstupy iným spôsobom, než je to zaužívané v prípade monogénových foriem. Už spomínané GWAS analýzy a výpočty PRS sa v tomto kontexte aktuálne intenzívne študujú.

Ďalším možným vysvetlením faktu, prečo niektorí pacienti zostávajú geneticky neobjasnení, môže byť prítomnosť nemendelistických epigenetických príčin pri danej epilepsii. Preto

sa epigenetika, študujúca modifikácie DNA a DNA asociované proteíny, ktoré regulujú génovú expresiu prostredníctvom remodelovania chromatinu a zmeny jeho prístupnosti, stáva aj v oblasti epilepsií významnou súčasťou výskumu (Van Loo et al., 2022). Príkladom epigenetickej modifikácie je metylácia cytozínu v CpG ostrovcokoch (nachádzajú sa väčšinou v promótorových oblastiach génov), ktorá obyčajne vedie k atenuácii daného génu (gene silencing). Aberantná DNA metylácia môže viesť priamo či nepriamo k vzniku rôznych ochorení. Existujú moderné metodiky schopné v jednotlivých somatických tkanivách identifikovať zmeny metylácie v individuálnych génoch (DMRs – differential methylation regions), ako aj globálne DNA metylačné (DNAm) podpisy/signatúry (tzv. episignatures), ktoré pokrývajú mnohé lokusy asociované s určitým ochorením (Johannesen et al., 2023). V súčasnosti bolo charakterizovaných 15 takýchto signatúr spojených s génovými defektmi, ktoré sa podieľajú na vzniku epilepsie: *ANKRD11*, *ARID1B*, *ATRX*, *CHD2*, *CREBBP*, *EHMT1*, *NSD1*, *SETD1B*, *SETD5*, *SMARCA2*, *SMC1A*, *SMS*, *UBE2A*, *FAM50A* a *TET3* (Johannesen et al., 2023).

Necielená metabolomika, známa ako metabolický skrining novej generácie, sa tiež môže podieľať na odhalení genetického pozadia epilepsií. Z približne 2000 známych vrodených metabolických porúch viac ako 600 súvisí s epilepsiou. Nedávna štúdia ukázala, že necielená metabolomika v kombinácii s genetickou analýzou u 74/170 pacientov (43,5 %) prispela k interpretácii rizikových variantov vo viac ako 73 rôznych génoch zapojených do metabolických dráh (Johannesen et al., 2023).

Záver

Mnohé DNA varianty v rámci toho istého génu môžu indukovať syntézu rôznych

foriem dysfunkčných proteínov, čo vedie k heterogénnym klinickým fenotypom epilepsie a navyše často aj k rôznym odpovediam na lieky. V prípade epilepsie preto len presná charakterizácia génových variantov môže otvoriť cestu k cielenej personalizovanej liečbe a zníženiu rezistencie na lieky. WES a WGS ponúkajú vyššiu diagnostickú výťažnosť v porovnaní s multigénovými panelmi alebo mikročipmi, preto by sa WES a WGS (ak sú k dispozícii) mali považovať za prvú úroveň diagnostického vyšetrenia epilepsie a mali by sa zväžiť hlavne u pacientov s novorodeneckými alebo detskými záchvatmi, DEE, familiárnymi epilepsiami alebo záchvatmi sprevádzanými kognitívnymi a psychiatrickými komorbiditami. Výhodou WGS je, že hodnotí kompletný genóm vrátane nekódujúcich sekvencií, čo je užitočné aj pri výpočte skóre polygénového rizika pri komplexnejších epilepsiách, a je tiež výkonnejšia než WES pri detekcii CNV, SV a TR. Aj keď niektoré z opísaných genetických diagnostických stratégií presahujú rámec exómu a genómu a zatiaľ nie sú bežne dostupné v klinickej praxi, predpokladáme, že s neustálym technologickým vývojom sa v blízkej budúcnosti stanú klinicky relevantnými a budú integrované do rutinných diagnostických postupov a liečebných stratégií. Výzvou pre základný výskum stále zostáva pochopenie klinického významu rastúceho počtu novoidentifikovaných génových variantov, ako aj schopnosť pracovať s veľkým množstvom údajov získaných metodikami MPS a interpretovať ich pomocou vhodných bioinformatických nástrojov. Prínos genetického testovania je z diagnostického aj terapeutického hľadiska už teraz pri epilepsii nepopierateľný a jeho vplyv na samotný manažment pacienta bude s rozvojom medicíny a vedy tiež len narastať.

LITERATÚRA

1. Bayat A, Bayat A, Rubboli G, et al. Epilepsy Syndromes in the First Year of Life and Usefulness of Genetic Testing for Precision Therapy. *Genes*. 2021;12(7). <https://doi.org/10.3390/genes12071051>.
2. Borowicz-Reutt K, Czernia J, Krawczyk M. Genetic Background of Epilepsy and Antiepileptic Treatments. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(22). <https://doi.org/10.3390/ijms242216280>.
3. Budiš J, Kucharík M, Ďuriš F, et al. Dante: genotyping of known complex and expanded short tandem repeats. *Bioinformatics*. 2019;35(8):1310-1317.
4. Campbell C, Leu C, Feng YA, et al. The role of common ge-

- netic variation in presumed monogenic epilepsies. *EBioMedicine*. 2022;81:104098.
5. Chen WL, Mefford HC. Diagnostic Considerations in the Epilepsies-Testing Strategies, Test Type Advantages, and Limitations. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*. 2021;18(3):1468-1477.
6. Corbett MA, Depienne C, Venziano L, et al. Genetics of familial adult myoclonus epilepsy: From linkage studies to non-coding repeat expansions. *Epilepsia*. 2023;64 Suppl 1(Suppl 1):S14-S21.
7. Dolzhenko E, Deshpande V, Schlesinger F, et al. ExpansionHunter: a sequence-graph-based tool to analyze variation in

- short tandem repeat regions. *Bioinformatics*. 2019;35(22):4754-4756.
8. Ellis CA, Petrovski S, Berkovic SF. Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *Lancet neurology*. 2020;19(1):93-100.
9. Gonsales MC, Montenegro MA, Preto P, et al. Multimodal Analysis of Missense Variants Improves Interpretation of Clinically Relevant Variants in Dravet Syndrome. *Frontiers in neurology*. 2019;10:289.
10. Guerrini R, Balestrini S, Wirrell EC, et al. Monogenic Epilepsies: Disease Mechanisms, Clinical Phenotypes, and Targeted Therapies. *Neurology*. 2021;97(17):817-831.

11. Habela CW, Schatz K, Kelley SA. Genetic Testing in Epilepsy: Improving Outcomes and Informing Gaps in Research. *Epilepsy currents/American Epilepsy Society* [Preprint]. 2024. <https://doi.org/10.1177/15357597241232881>.
12. Hebbbar M, Mefford HC. Recent advances in epilepsy genomics and genetic testing. *F1000Research*, 9. 2020. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21366.1>.
13. Helbig KL, Farwell Hagman KD, Shinde DN, et al. <http://paperpile.com/b/EgdPWZ/HepLo> Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*. 2016;18(9):898-905.
14. International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies. Genome-wide mega-analysis identifies 16 loci and highlights diverse biological mechanisms in the common epilepsies. *Nature communications*. 2018;9(1):5269.
15. Johannesen KM, Tumer Z, Weckhuysen S, et al. Solving the unsolved genetic epilepsies: Current and future perspectives. *Epilepsia*. 2023;64(12):3143-3154.
16. Krey I, Platzer K, Esterhuizen A, et al. Current practice in diagnostic genetic testing of the epilepsies. *Epileptic disorders: international epilepsy journal with videotape*. 2022;24(5):765-786.
17. Kurosawa R, Lida K, Ajiro M, et al. PDIVAS: Pathogenicity predictor for Deep-Intronic Variants causing Aberrant Splicing. *BMC genomics*. 2023;24(1):601.
18. Leu C, Stevelink R, Smith AW, et al. Polygenic burden in focal and generalized epilepsies. *Brain: a journal of neurology*. 2019;142(11):3473-3481.
19. Leu C, Richardson TG, Kaufmann T, et al. Pleiotropy of polygenic factors associated with focal and generalized epilepsy in the general population. *PLoS one*. 2020;15(4):e0232292.
20. Maillard PY, Baer S, Schaefer E, et al. Molecular and clinical descriptions of patients with GABA receptor gene variants (GABRA1, GABRB2, GABRB3, GABRG2): A cohort study, review of literature, and genotype-phenotype correlation. *Epilepsia*. 2022;63(10):2519-2533.
21. Mefford HC. Clinical Genetic Testing in Epilepsy. *Epilepsy currents / American Epilepsy Society*. 2015;15(4):197-201.
22. Mousavi N, Shleizer-Burko S, Yanicky R, et al. Profiling the genome-wide landscape of tandem repeat expansions. *Nucleic acids research*. 2019;47(15):e90.
23. Oliver KL, Scheffer IE, Bennett MF, et al. Genes4Epilepsy: An epilepsy gene resource. *Epilepsia*. 2023;64(5):1368-1375.
24. Oyrer J, Maljevic S, Scheffer IE, et al. Ion Channels in Genetic Epilepsy: From Genes and Mechanisms to Disease-Targeted Therapies. *Pharmacological reviews*. 2018;70(1):142-173.
25. Perucca P, Bahlo M, Berkovic SF. The Genetics of Epilepsy. *Annual review of genomics and human genetics*. 2020;21:205-230.
26. Rastin C, Schenkel LC, Sadikovic B. Complexity in Genetic Epilepsies: A Comprehensive Review. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(19):14606.
27. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-521.
28. Symonds JD, Zuberi SM, Johnson MR. Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Current opinion in neurology*. 2017;30(2):93-199.
29. Van Loo KMJ, Carvill GL, Beckej AJ, et al. Epigenetic genes and epilepsy – emerging mechanisms and clinical applications. *Nature reviews. Neurology*. 2022;18(9):530-543.
30. Ye Z, Chatterton Z, Pflueger J, et al. Cerebrospinal fluid liquid biopsy for detecting somatic mosaicism in brain. *Brain communications*. 2021;3(1):fcaa235.
31. Zhou J, Troyanskaya OG. Predicting effects of noncoding variants with deep learning-based sequence model. *Nature methods*. 2015;12(10):931-934.