

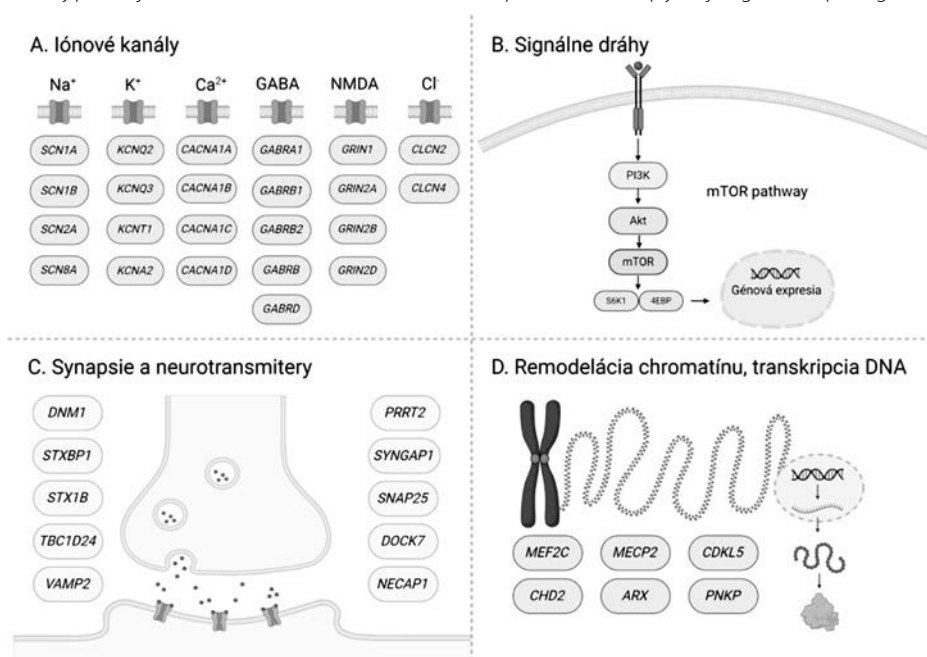
Obr. 1. Ilustrácia niektorých patogénnych mechanizmov pri bežných epilepsiách (upravené a aktualizované podľa Ellis, Petrovski et Berkovic, 2020)

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 expsie 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 ochoreniu 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