

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

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 transkripč-