

# İdiyopatik Jeneralize Epilepsi ile EFHC1 Genindeki 662 G>A ve 685 T>C Mutasyonu Arasındaki İlişkinin Araştırılması

## Association Between Idiopathic Generalized Epilepsy and EFHC1 Gene Mutations of 662 G>A and 685 T>C

İlker BÜYÜK,<sup>a</sup>  
Berrin TUĞRUL,<sup>b</sup>  
Hikmet YILMAZ,<sup>c</sup>  
Ece ONUR,<sup>d</sup>  
Gülşen VATANDAŞ,<sup>c</sup>  
Ferda DOĞAN BOZYİĞİT<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Moleküler Biyoloji AD, Biyoloji Bölümü,  
Bozok Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi, Yozgat

<sup>b</sup>Moleküler Biyoloji AD, Biyoloji Bölümü,  
Celal Bayar Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi,

<sup>c</sup>Noroloji AD,

<sup>d</sup>Biyokimya AD,

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Manisa

Geliş Tarihi/Received: 02.08.2011

Kabul Tarihi/Accepted: 16.03.2012

Bu çalışma, 1. Ulusal Moleküler Biyoloji ve  
Biyoteknoloji Kongresi (26-29 Ekim 2010,  
Antalya)'nda poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence:

İlker BÜYÜK

Ankara Üniversitesi

Fen Fakültesi,

Biyoteknoloji AD, Biyoloji Bölümü,

Ankara,

TÜRKİYE/TURKEY

ilker.buyuk@bozok.edu.tr

**ÖZET Amaç:** İdiyopatik jeneralize epilepsi (IJE) altta yatan herhangi bir beyin hasarı, nörolojik belirti ve bulgu olmaksızın ortaya çıkan bir epilepsi tipidir. IJE'lerde ve alt tiplerinde, hastalığın yatan temel genetik kökenli olduğuna dair son yıllarda yapılmış çalışmalarda, merkezi sinir sistemindeki bazı önemli iyon kanalları ve diğer kanallar ile ilgili çeşitli genlerdeki genetik mutasyonların hastalıkla ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Bu mutasyonlar arasında iyon kanalı harici diğer kanal genlerinden biri olan *EFHC1* geni ile ilişkili olanlar tartışmalıdır (545G>A, 685T>C, 628G>A, 757G>T, 229C>A, 662G>A, 520A>G, 776G>A, 829C>T). Bu çalışmada, *EFHC1* genindeki 662G>A (R221H) ve 685T>C (F229L) mutasyonları ile IJE arasındaki ilişki Türk toplumunda değerlendirilmiştir. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya, Nöroloji Anabilim Dalı'nda IJE tanısı almış 96 hasta (41 erkek, 55 kadın) ve 96 sağlıklı birey (47 erkek, 49 kadın) dâhil edildi. Kan örnekleri toplandıktan sonra, DNA izolasyonu yapıldı. *EFHC1* geninin 4. ekzonundaki 662G>A (R221H) ve 685T>C (F229L) mutasyonları, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırıldı. Hasta ve kontrol grubundan elde edilen bulgular istatistiksel olarak karşılaştırıldı. **Bulgular:** 685T>C mutasyonunu, hasta grubundaki 1 erkeğin heterozigot, kontrol grubundaki biri erkek, diğeri kadın olmak üzere 2 kişinin heterozigot olarak taşıdığı belirlendi. Hasta ve kontrol gruplarında 662G>A mutasyonuna rastlanmadı. Gerçek zamanlı PZR analizinden elde edilen verilere göre hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (685T>C mutasyonu için p değeri=0,56062; 662G>A mutasyonu için p değeri=1,00). **Sonuç:** Sonuç olarak Türk hastalarda *EFHC1* geninin IJE oluşumunda etken bir genetik faktör olduğuna ilişkin herhangi bir kanıt elde edemedik. Bu anlamda elde ettiğimiz sonuçlar 685T>C ve 662G>A mutasyonlarının IJE ile ilişkili olmayabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Epilepsi, genel; *EFHC1* protein, insan; polimeraz zincir reaksiyonu

**ABSTRACT Objective:** Idiopathic generalized epilepsy (IGE) is an epilepsy form without an underlying brain lesion or neurological indication or symptom. Recent investigations on the genetic origins of IGE and its subtypes report that certain mutations of various ion and non-ion channel genes in the central nervous system may be associated with IGE. Among these mutations, the ones related to the non-ionic channel gene *EFHC1* are controversial (545G>A, 685T>C, 628G>A 757G>T, 229C>A, 662G>A, 520A>G, 776G>A, 829C>T). In this study we investigated the relationship between IGE and 662G>A (R221H) and 685T>C (F229L) mutations in *EFHC1* gene in a Turkish population. **Material and Methods:** The study enrolled 96 healthy volunteers (47 male, 49 female) and 96 IGE patients (41 male, 55 female). IGE diagnosis was confirmed in the neurology department. After venous blood sampling, DNA extractions were performed. The presence of 662G>A (R221H) and 685T>C (F229L) mutations in the exon 4 of *EFHC1* gene were analyzed using Real-Time polymerase chain reaction (PCR) (Cobas, Roche Diagnostics, Germany). The results of the control and patient groups were compared statistically. **Results:** In the patient group there was one heterozygous male with 685T>C mutation. In the control group, there were two subjects with 685T>C mutation; one heterozygous male and one heterozygous female. The control and the patient groups did not have the 662G>A mutation. The difference between the patient and the control groups were not significant (p value for 685 T>C mutation=0.56062; p value for 662G>A mutation=1.00). **Conclusion:** We found no evidence that *EFHC1* is a major genetic factor for the development of IGE in Turkish patients. Our results indicated that 685T>C and 662G>A mutations might not be associated with IGE.

**Key Words:** Epilepsy, generalized; *EFHC1* protein, human; polymerase chain reaction

doi: 10.5336/medsci.2011-25681

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(5):1247-53

İdiyopatik jeneralize epilepsiler (İJE) tüm epilepsilerin neredeyse yarısını oluşturan, altta yatan herhangi bir beyin hasarı ve nörolojik belirti olmaksızın ortaya çıkan ve tekrarlayıcı nitelikte nöbetlerle karakterize olan, sadece epilepsinin görüldüğü sendromlardır.<sup>1</sup> Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE)'nin 1989 yılında yapmış olduğu ve günümüzde hala geçerliliğini sürdüren sınıflandırmada yer alan tüm epilepsi sendromları içerisinde genetik ilişkinin en ön planda olduğu grup, İJE olarak tanımlanmaktadır.<sup>1</sup> Çoğunlukla çok faktörlü kalıtım şekline sahip olduğu bilinen ve çevresel faktörlerin etkisi ile şekillenen İJE nadiren de olsa otozomal dominant veya otozomal resesif kalıtım özelliği göstermektedir.<sup>2</sup>

Yapılan çalışmalarda voltaj kapılı ve ligant kapılı iyon kanalı alt ünitesi kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonların İJE'nin çeşitli alt tiplerine yol açtığı görülmüştür.<sup>3,4</sup> Kanal mutasyonlarının nöronal depolarizasyon fazında meydana gelen uzama ve repolarizasyon fazındaki gecikme ile nöronlarda aşırı uyarılabilirlik oluşturduğu ve bazı İJE sendromlarından sorumlu olduğu belirtilmiştir.<sup>5</sup> Özellikle son 10 yılda İJE alttipleri ve iyon kanalları üzerine yapılan çalışmalar neticesinde patojenik olabilecek çok sayıda gen tespit edilmiştir. İyon kanalı alt ünitesi kodlayan bu genler *GABRA1*, *GABRG2*, *GABRD*, *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *CHRNA4* ve *CHRNA2* genleridir.<sup>6-15</sup> İyon kanalı genlerindeki, idiyopatik epilepsilere neden olan mutasyonların dışında, iyon kanalı harici genlerdeki, epilepsi ile ilişkili mutasyonların da hastalığın ortaya çıkmasında etkisinin olduğu belirtilmektedir. Bu genler arasında *LG11*, *LG14*, *ME2*, *BRD2*, *SLC2A1*, *SLC1A3*, *EFHC1* ve *EFHC2* bulunmaktadır.<sup>16-23</sup> Çalışmamızda mutasyon taraması yaptığımız *EFHC1* geni, daha önce birkaç toplumda taranmış, ancak patojenik olup olmadığı henüz netleşmemiş olan ve bu anlamda çalışılması gereken bir genidir.

*EFHC1* geni 75 590 baz çiftinden oluşmakta ve 6p12 kromozomal lokalizasyonunda bulunmaktadır. On bir ekzondan oluşan bu gen, 3DM10 bölgesi ve tek EF-el motifinden oluşan 70 kDa'luk bir proteini kodlamaktadır.<sup>22</sup>

İlk olarak Suzuki ve ekibinin 2004 yılında gerçekleştirmiş oldukları çalışmada *EFHC1* geninde meydana gelen bazı mutasyonların, idiyopatik jeneralize epilepsi alt tiplerinden juvenil miyoklonik epilepsi (JME)'ye neden olduğu ileri sürülmüştür.<sup>22</sup> Hastalık fenotipiyle *EFHC1* geni ilişkisine yönelik bu çalışmada, Meksikalı ailelerde 5 yanlış anlamlı mutasyon hastalıkla bağlantılı bulunurken, diğer mutasyonlar ile hastalık arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.<sup>22</sup> Sonraki yıllarda Alman toplumunda, İtalyan toplumunda, Avusturyalı İJE olgularında ve Avrupa kökenli JME'li hastalarda gerçekleştirilen çalışmalar, *EFHC1* genindeki patojenik olabilecek mutasyonlar hakkında farklı sonuçlar ortaya çıkarmıştır.<sup>23-27</sup>

Bu çalışmalarda, *EFHC1* geni ile İJE sendromları arasındaki ilişkinin, toplumdan topluma farklılık gösterdiği ve özellikle genin 4. ekzonunda rastlanan 685 T>C ve 662G>A mutasyonlarının patojenik etkilerinin kimi toplumlarda gözlenirken, kimilerinde gözlenmediği saptanmıştır. Bu nedenler dikkate alınarak gendeki bu iki mutasyonun, Türk toplumunda hastalıkla ilişkisi bakımından araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, İJE tanısı almış 96 kişilik hasta grubu ve 96 kişilik kontrol grubu üyeleri arasında *EFHC1* geni 685T>C ve 662G>A mutasyonları, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle hibridizasyon problemleri kullanılarak araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda, *EFHC1* geninin 4. ekzonundaki 685T>C ve 662G>A mutasyonları İJE'li 96 hasta ve sağlıklı 96 kişilik bir kontrol grubunda karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait demografik (yaş ortalaması, cinsiyet) ve klinik parametreler (nöbet tipi, ilk nöbet yaşı) Tablo 1'de verilmiştir. Hasta ve kontrol grubu üyelerinin her birinden, çalışmaya kendi rızaları ile katıldıklarını belgelemek amacıyla bilgilendirilmiş olur alınmıştır. Celal Bayar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışma izni alınarak bilim etiği çerçevesinde çalışma tamamlanmıştır.

**TABLO 1:** Hasta ve kontrol grubuna ilişkin demografik parametreler.

Demografik parametreler		Hasta grubu	Kontrol grubu
Cinsiyet	Bayan	55	50
	Erkek	41	46
	JTKN	77	-
	Tonik	4	-
Nöbet tipi	Atonik	3	-
	Absans	8	-
	Miyoklonik	4	-
İlk nöbet yaşı	16'dan küçük	44	-
	16'dan büyük	52	-
Yaş ortalaması		31	35

JTKN: Jeneralize tonik-klonik nöbetler.

Çalışmaya katılan her bireyden 3 cc periferik kan örnekleri alınmış ve High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) ile kandan genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon kitle belirtilen protokole göre uygulanmış olup, izole edilen DNA'lar kalite ve saflık tayini için spektrofotometrik ölçüme tabi tutularak, konsantrasyonu 20 ng/μl olacak şekilde ayarlanmıştır.

Kandan izole edilen DNA'lardan, gerçek zamanlı PZR yöntemi ile *EFHC1* genindeki F229L (685T>C) ve R221H (662G>A) aminoasit değişimlerine neden olan mutasyonların bulunduğu 150 baz çiftlik (bç) gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler ve baz değişimini belirlemek amacıyla kullanılan proplar Tablo 2'de belirtilmektedir.

Gerçek zamanlı PZR işlemi LightCycler 1.5 ve 480 cihazları (Roche Diagnostics GmbH, Mann-

heim, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR işlemi ve mutasyon belirlemek için, LightCycler Fast Start DNA Master Probe seti (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılmıştır. Kullanılan set FastStart Taq DNA Polimeraz, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, 10mM MgCl<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O bileşenlerinden oluşmaktadır. PZR reaksiyonu, sıcaklık döngüleri, Taq DNA polimerazı aktive etmek için bir ön enkübasyon safhası (95°C, 10 dk), denatürasyon (95°C, 10 sn), bağlanma (55°C, 15 sn) ve uzama (72°C, 15 sn) aşamalarını kapsayan 45 PZR döngüsü ve tek nükleotit polimorfizmi (SNP) belirlemek için bir erime eğrisi analizinden oluşmaktadır. PZR döngüsü bağlanma fazında amplifikasyon eğrisi gözlemek için tek okuma yapılmıştır. Erime eğrisi analizi esnasında ise 0,2°C/sn artışlarla sürekli okuma gerçekleştirilmiştir.

İJE hastalarında ve sağlıklı bireylerde gözlenen allel ve genotip frekansları arasındaki ilişkiler De-Finetti vaka-kontrol istatistik programı (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) ile değerlendirilmiştir. Allel ve genotip dağılımları ile hasta grubuna ait demografik parametreler arasındaki ilişki ise Ki-kare testleri (Yates, Fisher's exact) ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılığın değerlendirilmesinde, 0,05 sayısal değer referans olarak kullanılmıştır ve sonuçlar p<0,05 olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Hasta grubunun 55'i kadın 41'i erkek iken, kontrol grubunun 50'si kadın ve 46'sı erkekti. Çalışmaya

**TABLO 2:** 662 G>A ve 685 T>C mutasyonları için kullanılan primerler ve proplar.

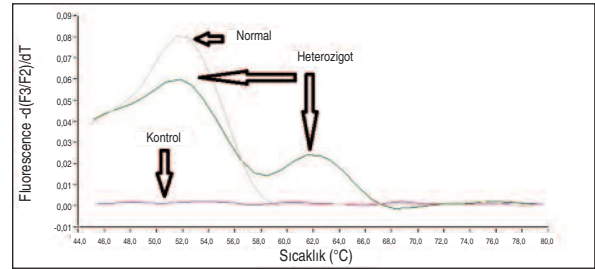
662 G>A (R221H) mutasyonu		
İleri primer	EFHC1S	gAAAgCCAggAATTgAgTTAAATC
Geri primer	EFHC1R	TTACCAATACAgtACCCAAACC
Floresans işaretli prob	R221H wt	gggTgACATACTTACgAAgaggC-FL
640 nm dalga boyundan okuma sağlayan prob	AncR221H	640-gTTTTCCggAgTTCAGtTAAgG p
685 T>C (F229L) mutasyonu		
İleri primer	EFHC1S	gAAAgCCAggAATTgAgTTAAATC
Geri primer	EFHC1R	TTACCAATACAgtACCCAAACC
Floresans işaretli prob	rs28940311C	ACCCATCAgACCTTgATCA-FL
705 nm dalga boyunda okuma sağlayan prob	Anc rs28940311	705-CTCAAgCAATTTCTCACCTTgACAAA p

alınan bireylerin yaş ortalaması hasta grubunda 31, kontrol grubunda ise 35 olarak belirlendi. Hastaların %45,8'inin klinik bulguları 16 yaş ve altında, %54,2'sinin 16 yaş üzerinde başlamıştı. Hasta grubu bireylerinin 77'si jeneralize tonik-klonik nöbet (JTKN), 4'ü tonik, 3'ü atonik, 8'i, absans ve 4'ü miyoklonik (JME) nöbetleri olan bireylerdi.

Çalışmamıza dâhil edilen 96 İJE olgusu ve 96 sağlıklı bireyin, Light Cycler 1.5 sistem cihazında *EFHC1* geni 685T>C mutasyonuna yönelik erime eğrisi analizi sonuçlarına göre (Şekil 1), hasta grubunda 1 erkek bireyin heterozigot (T/C), kontrol grubunda ise biri erkek diğeri kadın olmak üzere 2 kişinin heterozigot genotipe (T/C) sahip olduğu belirlendi. Hasta ve kontrol grubunda gerçekleştirilen 685T>C mutasyon analizinden elde edilen sonuçlar De-Finetti vaka-kontrol istatistik programı ile (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) karşılaştırıldı ve mutasyona ait genotiplerin dağılımı ve allel frekansları Tablo 3'de gösterildi. T/T ve T/C genotipine sahip hasta ve kontrol grubu bireyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi [(T/T vs T/C+T/A: Odds oranı (OO) %95 Güven aralığı (GA) 0,495 (0,044-5,549), p=0,56062)] (Tablo 3). Hasta grubunda heterozigot varyant genotipe (T/C) rastlanma oranı da kontrol

grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (T/T vs T/C: OO %95 GA 0,495 (0,044-5,549), p=0,56062). Bu bulgular, C allelinin İJE hastalığı riski ile ilişkili olmadığı düşüncesini desteklemektedir.

*EFHC1* geni 662G>A (R221H) mutasyonuna yönelik erime eğrisi analizi (Şekil 2) sonucunda elde alınan tüm bireylerde 65°C'de tek bir pik elde edildi. Hasta ve kontrol gruplarında 662G>A mutasyonuna rastlanmadı ve tüm bireylerin genotipleri G/G (normal) olarak değerlendirildi. İki grup arasında 662G>A mutasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (G/G vs G/A+G/G: OO %95 GA 1,000 (0,020-50,911), p=1,00) (Tablo 3). Hasta grubunda heterozigot var-



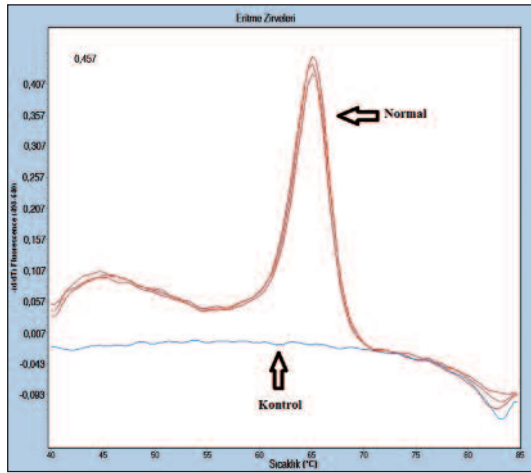
ŞEKİL 1: Light Cycler 1.5 sistem 685T>C erime eğrisi analizi. (Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

TABLO 3: 685 T>C ve 662 G>A mutasyonlarının İJE hastalarında ve kontrol gruplarında dağılımı.

685 T>C (F229L)	İJE (n=96)	Kontrol (n=96)	OO (%95 GA)	p (x2)
TT	95	94	1 (referans)	-----
TC	1	2	0,495 (0,044-5,549)	0,56062 (0,34)
CC	0	0	0,990 (0,019-50,386)	1 (*)
TC+CC	1	2	0,495 (0,044-5,549)	0,56062 (0,34)
Alleller				
C	1	2	0,497 (0,045-5,531)	1,03733 (0,34)
T	191	190	1 (referans)	-----
662 G>A(R221H)	İJE (n=96)	Kontrol (n=96)	OO (%95 GA)	p (x2)
GG	96	96	1 (referans)	1,00 (*)
GA	0	0	1,00 (0,020-50,911)	1,00 (*)
AA	0	0	1,00 (0,020-50,911)	1,00 (*)
GA+AA	0	0	1,00 (0,020-50,911)	1,00 (*)
Alleller				
A	0	0	1,00 (0,020-50,564)	1,00 (*)
G	192	192	1 (referans)	-----

\* Hesaplanamayan değerleri ifade etmektedir.

GA: Güven aralığı; İJE: İdiyopatik jeneralize epilepsi; OO: Odds oranı.



**ŞEKİL 2:** Light Cycler 480 sistem 662G>A erime eğrisi analizi. (Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

yant genotipe (G/A) rastlanma oranı da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (G/G vs G/A: OO %95 GA 1,000 (0,020-50,911),  $p=1,00$ ). Bu bulgular, A allelinin de İJE hastalığı riski ile ilişkili olmadığı düşüncesini ortaya çıkarmaktadır.

685T>C mutasyonunun allel ve genotip dağılımlarının demografik parametrelerle ilişkisi araştırıldığında, cinsiyet ( $p=0,427$ ), ilk nöbet yaşı ( $p=0,458$ ) ve nöbet tipi ( $p=0,249$ ) açısından anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 1). Hasta ve kontrol gruplarında homojen bir genotip dağılımı gösteren 662G>A mutasyonunun klinik parametrelerle ilişkisinin araştırılmasına ise gerek duyulmadı.

## TARTIŞMA

Çalışmamızda İJE tanısı almış 96 epilepsili bireyde ve 96 sağlıklı kontrolde *EFHC1* genindeki 685T>C ve 662G>A mutasyonlarının gerçek zamanlı PZR yöntemiyle analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre hasta grubunda 1, kontrol grubunda 2 kişide 685 T>C mutasyonuna rastlanmıştır. 662G>A mutasyonunu ise hasta ve kontrol grubunda taşıyan kişinin olmadığı belirlenmiştir. Hasta ve kontrol grubunun bulguları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Türk toplumunda bu mutasyonlar ile İJE arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı tespit edilmiştir.

Günümüze dek, İJE ve alttipleri ile *EFHC1* genindeki 685T>C ve 662G>A mutasyonları arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar mevcuttur. *EFHC1* geninde İJE'ye dair gerçekleştirilmiş çalışmaların ilkinde Suzuki ve ark. 2004 yılında, 1'i Meksika, 1'i Belize ve 12'si Avrupa kökenli Amerikan olmak üzere, İJE alttiplerinden olan JME'li 44 ailede yaptıkları çalışmada, hasta grubu üyelerinde görülen, ancak 382 kontrol grubu üyesinde rastlanmayan 5 adet mutasyon bulmuş (P77T, D210N, R221H, F229L, D253Y) ve bu mutasyonların İJE alttiplerinden biri olan JME ile ilişkili olabileceği görüşünü ortaya atmışlardır.<sup>22</sup> Çalışmamızda ise JME'li bireylerin de arasında bulunduğu hasta grubu ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel frekansları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Stogmann ve ark., İJE sendromuna sahip Avusturyalı 433 İJE olgusunun 5'inin ve 368 kontrol grubu üyesinin 4'ünün 685T>C (F229L) mutasyonu taşıdıklarını belirlemişlerdir. Ancak bu mutasyonun hasta ve kontrol grubunda eşit frekansta görülmesi sebebiyle 685T>C mutasyonunun İJE ile ilişkili olmayabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir.<sup>26</sup> Çalışmamızda; Stogmann ve ark.nın bulgularını destekler şekilde, 685T>C mutasyonu, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır.

İJE alttiplerinden JME'li bireylerin bulunduğu İtalyan ailelerde yapılmış bir çalışmada ele alınan epilepsili bireylerde 685T>C (F229L) mutasyonu tespit edilmesine karşın, kontrol grubu bireylerinde bu mutasyona rastlanmamıştır.<sup>25</sup> Honduras, Amerika ve Meksika'lı 130 JME'li ailede yapılmış bir diğer çalışmada da 685T>C (F229L) mutasyonunun JME'li ailelerde bulunduğu, fakat kontrol grubunda bulunmadığı belirtilmektedir.<sup>24</sup> Bu çalışmada ise hem hasta hem de kontrol grubunda az sayıda ve yakın frekansta mutasyon olduğu belirlenmiş ve yukarıda anılan iki çalışmaya zıt bir bulgu elde edilmiştir.

Alman JME'li bireyleri olan ailelerde yapılmış hasta-kontrol çalışmasında, 685T>C ve 662G>A mutasyonlarının JME'li ailelerde bulunmadığı rapor edilmiştir.<sup>23</sup> Yaptığımız çalışmada, 662G>A



mutasyonuna hasta ve kontrol grubunda rastlanmamış olması, Pinto ve ark.nın çalışmasını bu mutasyon bakımından desteklemektedir.

Ma ve ark.nın Avrupa kökenli 54 JME'li ailede gerçekleştirmiş oldukları hasta-kontrol çalışmasında, 662G>A mutasyonunun hasta grubunda 1 olguda bulunduğu ve çok nadir görülen bir mutasyon olabileceği belirtilmektedir.<sup>27</sup> Çalışmamızda ise hasta grubunda JME'li bireylerde mutasyona rastlanmamıştır; ileride, daha fazla sayıda JME'li hastayı kapsayacak çalışmalarla konunun tekrar değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

İdiyopatik jeneralize epilepsilerde epileptik sendromda genetik heterojenite ve fenotipik heterojenitenin etkisi genetik temelin aydınlatılmasını güçleştiren faktörlerdendir.<sup>2,10,28</sup> Yaptığımız çalışmada, 662G>A mutasyonlarının, İJE'nin altında yatan genetik nedenlerden olduğunu belirleyen bir bulgu elde edilememiş olması, genetik heterojenitenin kaynaklanıyor olabilir. Aynı zamanda, hasta grubunda, İJE'nin nöbet tipi bakımından farklı alt tiplerine sahip hastaların bulunması da bu sonucu etkiliyor olabilir.

İJE gelişmesine neden olan genetik faktörlerin toplumdan topluma farklılık gösterebileceği göz önüne alındığında, araştırdığımız mutasyonların toplumumuzda hastalıkla ilişkili bulunmaması etnik kökene bağlı olabilir.

Kompleks bir hastalık olan İJE'de rol oynayan bazı genlerin, nöbet tipi üzerinde etkisi olduğu, or-

taya atılan görüşler arasındadır. İyon kanalı genlerinden *KCNIA* geni ve *KCNJ10* geninin, epilepsi gelişmesinde major etkisi olan genler olmasa da nöbetler için bir risk faktörü olabileceği belirtilmektedir.<sup>29,30</sup> Çalışmamızda hasta grubu üyeleri nöbet tipi ve *EFHC1* 685T>C mutasyonu taşıyıcılığı bakımından karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, hasta grubunda ilk nöbet yaşı 16 ve altında olan bireyler ile 16 yaş üzerinde olan bireyler arasında da anlamlı bir fark elde edilememiştir. Bu sonuç, Reichsoellner ve ark.nın bulguları ile uyumlu gözükmektedir.<sup>31</sup>

Elde ettiğimiz *EFHC1* geni 685T>C mutasyonuna ilişkin veriler, bu mutasyonun İJE nöbet tipleri üzerinde etkin bir rol oynamadığını göstermektedir. 662G>A mutasyonu, hasta ve kontrol grubunda rastlanmadığı için bu açıdan değerlendirilememektedir.

İyon kanalları dışındaki diğer kanal genlerinden biri olan *EFHC1* genindeki 685T>C (F229L) ve 662G>A (R221H) mutasyonlarının İJE ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışma, gendeki bu iki mutasyonun İJE ile ilişkisinin olmadığını istatistiksel olarak ortaya koymaktadır. İJE hastalarında ve kontrol grubu bireylerinde *EFHC1* genindeki 685T>C ve 662G>A mutasyonlarına ilişkin yapılan bu çalışmada elde edilen genotipleme bulgularının, Türk toplumundaki ilk veriler olması bakımından ulusal ve uluslararası literatüre önemli bir katkısının olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Engel J Jr; International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia* 2001;42(6):796-803.
- Bebek N, Baykan B. [Genetics aspects of epilepsies and recent advances in genetics of idiopathic epilepsies]. *J Neurol Sci* 2006; 23(2):70-83.
- Gall CM, Lynch G. Integrins, synaptic plasticity and epileptogenesis. In: Binder KD, Scharfman EH. *Recent Advances in Epilepsy Research*. 1<sup>st</sup> ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1998. p.12-34.
- Arzimanoglu A, Guerrini R, Aicardi J. [General Aspects]. Devrent A, Eşkazan E, çeviri editörleri. Aicardi'nin Çocuklarda Epilepsi. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2007. p.7-13.
- Armijo JA, Shusharian M, Valdizan EM, Cuadrado A, de las Cuevas I, Adin J. Ion channels and epilepsy. *Curr Pharm Des* 2005;11(15):1975-2003.
- Cossette P, Liu L, Brisebois K, Dong H, Lortie A, Vanasse M, et al. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2002;31(2):184-9.
- Wallace RH, Marini C, Petrou S, Harkin LA, Bowser DN, Panchal RG, et al. Mutant GABA(A) receptor gamma2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet* 2001;28(1):49-52.
- Dibbens LM, Feng HJ, Richards MC, Harkin LA, Hodgson BL, Scott D, et al. GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies. *Hum Mol Genet* 2004;13(13):1315-9.

9. Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet* 2001;68(6):1327-32.
10. Heron SE, Scheffer IE, Berkovic SF, Dibbens LM, Mulley JC. Channelopathies in idiopathic epilepsy. *Neurotherapeutics* 2007;4(2):295-304.
11. Wallace RH, Wang DW, Singh R, Scheffer IE, George AL Jr, Phillips HA, et al. Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na<sup>+</sup>-channel beta1 subunit gene SCN1B. *Nat Genet* 1998;19(4):366-70.
12. Biervert C, Schroeder BC, Kubisch C, Berkovic SF, Propping P, Jentsch TJ, et al. A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. *Science* 1998;279(5349):403-6.
13. Charlier C, Singh NA, Ryan SG, Lewis TB, Reus BE, Leach RJ, et al. A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. *Nat Genet* 1998;18(1):53-5.
14. Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, Wallace RH, Phillips HA, Sutherland GR, et al. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 1995;11(2):201-3.
15. 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(3):275-6.
16. Kalachikov S, Evgrafov O, Ross B, Winawer M, Barker-Cummings C, Martinelli Boneschi F, et al. Mutations in LGI1 cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nat Genet* 2002;30(3):335-41.
17. Berkovic SF, Izzillo P, McMahon JM, Harkin LA, McIntosh AM, Phillips HA, et al. LGI1 mutations in temporal lobe epilepsies. *Neurology* 2004;62(7):1115-9.
18. Greenberg DA, Cayanis E, Strug L, Marathe S, Durner M, Pal DK, et al. Malic enzyme 2 may underlie susceptibility to adolescent-onset idiopathic generalized epilepsy. *Am J Hum Genet* 2005;76(1):139-46.
19. Greenberg DA, Durner M, Keddache M, Shinnar S, Resor SR, Moshe SL, et al. Reproducibility and complications in gene searches: linkage on chromosome 6, heterogeneity, association, and maternal inheritance in juvenile myoclonic epilepsy. *Am J Hum Genet* 2000;66(2):508-16.
20. Brockmann K, Wang D, Korenke CG, von Moers A, Ho YY, Pascual JM, et al. Autosomal dominant glut-1 deficiency syndrome and familial epilepsy. *Ann Neurol* 2001;50(4):476-85.
21. Jen JC, Wan J, Palos TP, Howard BD, Baloh RW. Mutation in the glutamate transporter EAAT1 causes episodic ataxia, hemiplegia, and seizures. *Neurology* 2005;65(4):529-34.
22. Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, Alonso ME, Shi J, Hara Y, et al. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2004;36(8):842-9.
23. Pinto D, Louwaars S, Westland B, Volkers L, de Haan GJ, Trenité DG, et al. Heterogeneity at the JME 6p11-12 locus: absence of mutations in the EFHC1 gene in linked Dutch families. *Epilepsia* 2006;47(10):1743-6.
24. Bai D, Bailey JN, Durón RM, Alonso ME, Medina MT, Martínez-Juárez IE, et al. DNA variants in coding region of EFHC1: SNPs do not associate with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2009;50(5):1184-90.
25. Annesi F, Gambardella A, Michelucci R, Bianchi A, Marini C, Canevini MP, et al. Mutational analysis of EFHC1 gene in Italian families with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2007;48(9):1686-90.
26. Stogmann E, Lichtner P, Baumgartner C, Bonelli S, Assem-Hilger E, Leutmezer F, et al. Idiopathic generalized epilepsy phenotypes associated with different EFHC1 mutations. *Neurology* 2006;67(11):2029-31.
27. Ma S, Blair MA, Abou-Khalil B, Lagrange AH, Gurnett CA, Hedera P. Mutations in the GABRA1 and EFHC1 genes are rare in familial juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Res* 2006;71(2-3):129-34.
28. Reid CA, Berkovic SF, Petrou S. Mechanisms of human inherited epilepsies. *Prog Neurobiol* 2009;87(1):41-57.
29. Eunson LH, Rea R, Zuberi SM, Youroukos S, Panayiotopoulos CP, Liguori R, et al. Clinical, genetic, and expression studies of mutations in the potassium channel gene KCNA1 reveal new phenotypic variability. *Ann Neurol* 2000;48(4):647-56.
30. Shang L, Lucchese CJ, Haider S, Tucker SJ. Functional characterisation of missense variations in the Kir4.1 potassium channel (KCNJ10) associated with seizure susceptibility. *Brain Res Mol Brain Res* 2005;139(1):178-83.
31. Reichsoellner J, Larch J, Unterberger I, Döbnerberger J, Kuchukhidze G, Luef G, et al. Idiopathic generalised epilepsy of late onset: a separate nosological entity? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81(11):1218-22.