

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA**  
**FACULTATEA MEDICINĂ GENERALĂ**



**DEPARTAMENTUL DE GENETICĂ MEDICALĂ**  
**ROZA EUGENIA**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**SUBSTRATUL GENETIC ÎN EPILEPSIE – DE LA DIAGNOSTIC LA MANAGEMENT  
ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ**

**Conducător Științific PROF. UNIV. DR. PUIU MARIA**

**T i m i ș o a r a 2 0 2 0**

## CUPRINS

<b>I. Introducere</b> .....	2
<b>II. Partea Generală</b> .....	4
<b>III. Partea Specială</b> .....	4
Capitolul 1. Scop și obiective .....	4
Capitolul 2. Materiale și metode .....	5
a. Criterii de includere .....	5
b. Criterii de excludere .....	5
c. Populația studiului .....	5
Capitolul 3. Rezultate și discuții .....	8
<b>IV. Concluzii, contribuții proprii și perspective</b> .....	9

### I. Introducere

Epilepsia reprezintă o afecțiune cronică caracterizată prin recurența unor episoade convulsive. Acestea apar prin descărcări electrice spontane sincrone ale celulelor nervoase din diferite arii cerebrale, rezultând astfel diversitatea manifestărilor clinice care apar. O singură criză epileptică nu implică diagnosticul de epilepsie, ci pentru acesta este nevoie de două sau mai multe astfel de manifestări de-a lungul timpului. Este necesară încadrarea bolii într-un sindrom epileptic conform clasificărilor inițiate de Liga Internațională Împotriva Epilepsiei (International League Against Epilepsy, ILAE), știind că diverse etiologii și sindroame necesită abordări și tratamente diferite. De aceea, unii autori preferă termenul de „epilepsii”, pentru a evita încadrarea tuturor entităților într-o singură denumire, din moment ce elementele constitutive implică un management și un prognostic diferit.

Se estimează că, în trecut, un procent de 70 % dintre epilepsii erau considerate a fi „idiopatice”, însă, pe măsură ce testele genetice au evoluat și au ajuns mai disponibile s-a demonstrat etiologia genetică a unui procent semnificativ de epilepsii. În prezent, etiologia genetică a epilepsiilor reprezintă un punct important de interes pentru cercetători viteza cu care se desfășoară progresele în această arie fiind una remarcabilă.

În ultimii 20 ani, în cazul a numeroase afecțiuni au existat progrese notabile, iar epilepsia nu este o excepție suspicionându-se de mult timp faptul că poate avea o bază genetică, începând să înțelegem bazele genetice moleculare ale acestui grup începând cu anul 1990(1).

Tema prezentei lucrări a fost aleasă deoarece în România, la această oră, nu există date clare despre pacienții cu epilepsie genetică sau registre ale acestora și nu există un protocol de urmărire a pacienților cu această suspiciune de boală sau de testare a acestora. Genetica medicală, atât în ceea ce privește diagnosticul de laborator cât și cel clinic, este un domeniu în plină evoluție în întreaga lume. În ciuda acestui fapt, în România, accesul pacienților precum și al celorlalte specialități medicale la diagnosticul genetic bazat pe tehnici moleculare moderne este limitat, atât prin paucitatea specialiștilor de genetică medicală, cât mai ales din rațiuni economice.

Această lucrare conține o parte generală în care am prezentat gradul actual de cunoaștere a grupului de epilepsii genetice, date istorice, opțiunile de testare genetică la acest moment, implicațiile obținerii unui diagnostic genetic în epilepsie, precum și o scurtă prezentare a fenotipurilor asociate cu cele mai cunoscute mutații genetice implicate în epilepsie la acest moment.

Prin prezenta lucrare mi-am propus:

- Identificarea etiologiei genetice în cazul pacienților cu epilepsie din cadrul secției de neurologie pediatrică a Spitalului Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu” din București, explicarea patogenezei oferind informații privind managementul, prognosticul și posibilitatea recurenței;
- Identificarea și caracterizarea clinică a pacienților cu mutații genetice care pot explica apariția epilepsiei;
- Evaluarea atitudinii terapeutice și a managementului pacientului în relație cu diagnosticul genetic;
- Realizarea unui protocol de urmărire și diagnosticare a pacienților cu epilepsie genetică.
- Realizarea unui registru de pacienți local care poate servi drept punct de plecare pentru realizarea unui registru național în viitor.
- Solidficarea colaborării între centrele de genetică medicală din țară și secția de neurologie pediatrică;

Astfel, pentru îndeplinirea obiectivelor antemenționate, am realizat un studiu longitudinal retrospectiv și prospectiv în cadrul secției de neurologie pediatrică a Spitalului Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu” din București ale cărui rezultate le-am prezentat în partea specială a prezentei lucrări.

## **II. Partea Generală**

Epilepsia reprezintă una dintre cele mai frecvente afecțiuni neurologice, cu o prevalență de aproximativ 1% (2). Conform Ligii Internaționale de Luptă Impotriva Epilepsiei (ILAE), ultimul consens în ceea ce privește clasificarea epilepsiilor aduce în prim-plan epilepsia de cauză genetică.

Epilepsia de cauză genetică, prin definiție, este o afecțiune care apare ca rezultat direct al unei mutații genetice cunoscute sau presupuse, iar crizele epileptice reprezintă elementul central al tabloului clinic(3). Spre deosebire de alte domenii ale neurologiei, baza genetică a unora dintre formele de epilepsie a fost dificil de demonstrat. Marea variabilitate fenotipică a reprezentat un obstacol important(2). Încă din anul 1995 când s-a descoperit gena CHRNA4 responsabilă de epilepsia nocturnă de lob frontal autozomal dominantă (4), sunt descoperite noi gene, iar avansul tehnologiei în domeniile genomicii și geneticii lărgeste constant orizontul de diagnostic (5). Investigații care până de curând erau destinate cercetării au devenit disponibile publicului larg și astfel, progresele sunt semnificative(6). Cu toate acestea, dată fiind diversitatea mare a epilepsiilor în care s-a ridicat suspiciunea implicării genetice, în marea majoritate a cazurilor, genele responsabile nu sunt încă cunoscute (3). Motivele sunt variate, de la expresivitatea variabilă a fenotipului în familii sau în cadrul aceleiași familii în cazul în care modul de transmitere este aparent autozomal dominant, heterogenicitatea genetică (mutații în gene diferite cauzând același fenotip) sau fenotipuri complexe care necesită evaluări minuțioase. (7)

## **III. Partea Specială**

### **Capitolul 1. Scop și obiective**

Studiul clinic a urmărit analiza cazurilor de epilepsie la pacienții de vârstă pediatrică internați în cadrul Clinicii de Neurologie Pediatrică a Spitalului Clinic de Copii „Doctor Victor Gomoiu”, în perioada octombrie 2016- iunie 2020, studiul etiologiei genetice în cadrul acestei populații, a metodelor de diagnosticare precum și impactul unui rezultat pozitiv asupra managementului pacientului.

Obiective:

1. Identificarea etiologiei genetice în cazul pacienților cu epilepsie din cadrul secției de neurologie pediatrică a Spitalului Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu” din București;

2. Identificarea și caracterizarea clinică a pacienților cu mutații genetice care pot explica apariția epilepsiei;
3. Evaluarea atitudinii terapeutice și a managementului pacientului în relație cu diagnosticul genetic;
4. Realizarea unui protocol de urmărire și diagnosticare a pacienților cu epilepsie genetică.
5. Realizarea unui registru de pacienți care poate servi drept punct de plecare pentru realizarea unui registru național în viitor.
6. Optimizarea colaborării între centrele de genetică medicală din țară și secția de neurologie pediatrică;

## Capitolul 2. Materiale și metode

În perioada octombrie 2016- august 2020 am realizat un studiu longitudinal retrospectiv și prospectiv în cadrul Secției Clinice de Neurologie Pediatrică din Spitalul Clinic de Copii” Dr Victor Gomoiu”, București.

### a. Criterii de includere

Studiul și-a propus să includă pacienți diagnosticați cu epilepsie care îndeplineau următoarele criterii de includere:

- Pacienți cu vârsta între 0-18 ani;
- Pacienți cu suspiciune de epilepsie de cauză genetică testați genetic cu rezultate emise sau în curs de emisie la momentul includerii în studiu
- Pacienții care și-au exprimat acordul participării la învățământul medical;

### b. Criterii de excludere

- Pacienții care au refuzat participarea la învățământul medical;
- Pacienții care nu s-au mai prezentat la evaluare;
- Pacienți cu epilepsie explicată prin alte etiologii decât cea genetică:
  - o Pacienți cu encefalopatie hipoxic-ischemică și crize epileptice ca răspuns la injuria acută;
  - o Epilepsii structurale dobândite;
  - o Infecții ale sistemului nervos central;

### c. Populația studiului

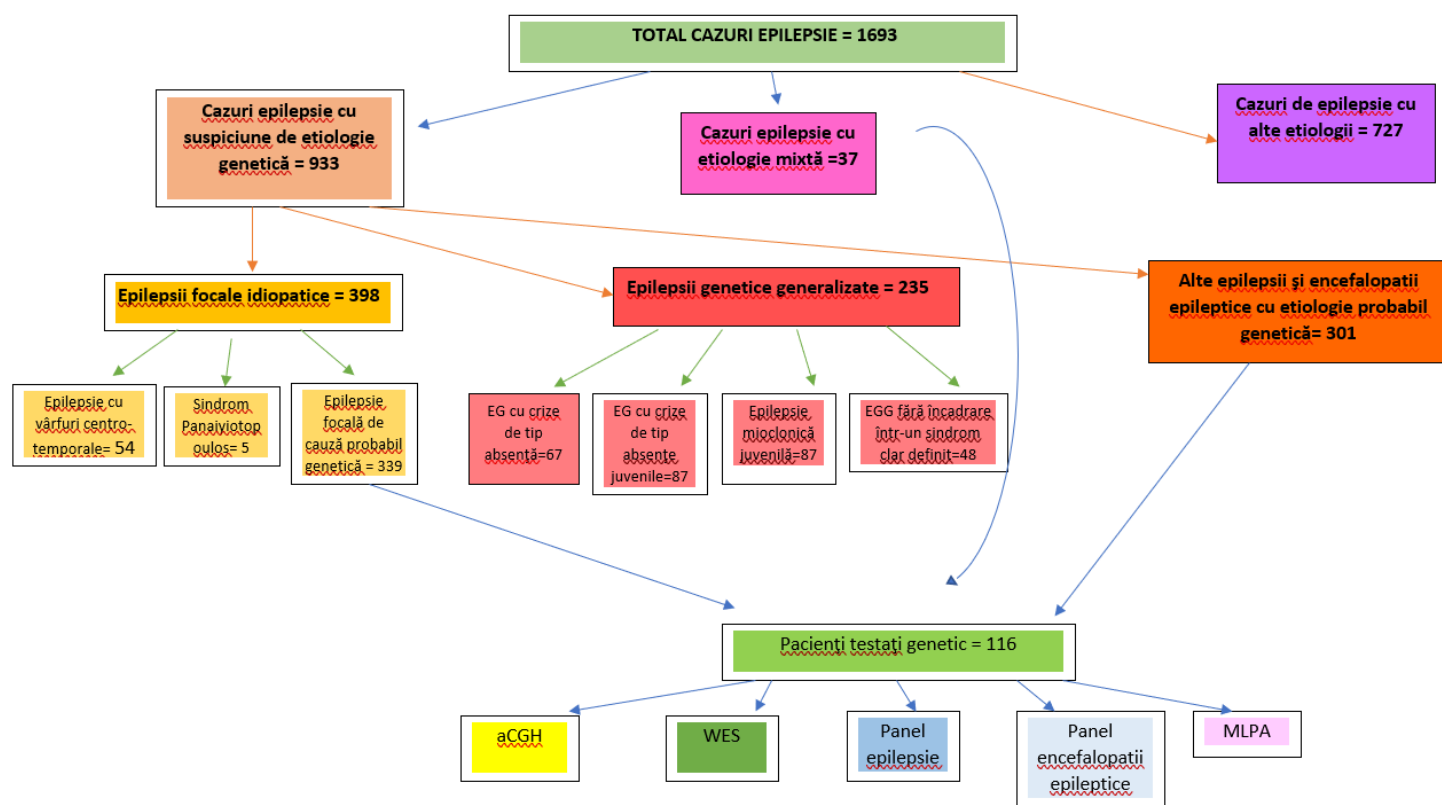


Fig. 1 Distribuția loturilor și subloturilor din studiu

1. Analiza pacienților a fost efectuată conform următorului protocol:

PROTOCOL DE CERCETARE		
I.	<b>Date demografice</b>	Sex, vârstă, mediul rural/urban
II.	<b>Antecedente heredocolaterale ale pacientului</b>	Mama, tata, frați/surori: -Vârstă -Antecedente personale fiziologice -Antecedente personale patologice -Antecedente heredocolaterale
III.	<b>Antecedente personale fiziologice ale pacientului</b>	1. Sarcina și nașterea: - Monitorizarea sarcinii și evoluția ei/ patologia de sarcină - Naștere spontană/ cezariană - Vârsta gestațională

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Greutate la naștere, lungime, perimetru cranian</li> <li>- Scor Apgar</li> <li>- Evenimente peri/intra/postpartum</li> </ul> <p>2. Dezvoltarea pe etape de vârstă</p> <p>3. Alte date: schema de imunizare, profilaxia rahitismului, alimentația</p>
<b>IV. Antecedente personale patologice ale pacientului</b>	
<b>V. Istoricul bolii</b>	<p>Evoluție clinică:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Debutul crizelor – vârstă</li> <li>- Aspect</li> <li>- Context de apariție</li> <li>- Durată</li> <li>- Remisiune</li> <li>- Frecvență</li> <li>- Modificarea aspectului în evoluție</li> </ul> <p>Tratament:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- AE folosite</li> <li>- Cronologia introducerii AE în schema terapeutică și beneficiile respectiv reacțiile adverse apărute.</li> </ul>
<b>VI. Examenul clinic general</b>	

<b>VII. Examenul neurologic</b>	
<b>VIII. Investigații paraclinice</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Analize de laborator : <ul style="list-style-type: none"> <li>- individualizate în funcție de fiecare caz în parte</li> <li>- testare genetică</li> </ul> </li> <li>2. Electroencefalografie: pacienții au fost investigați prin video-EEG, realizându-se înregistrări de veghe, somn de siestă și monitorizări de lungă durată de noapte. Pacienții au fost înregistrați folosind montaj bipolar “dublu-banana”, cu 21 de electrozi plasați în system 10-20. Softul de achiziție și analiză a fost NicOne.</li> <li>3. Imagistică: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cerebrală – IRM cerebral 1.5/3Tesla / CT</li> <li>- Ultrasonografie: abdominală, cardiacă, vezică și tract urinar</li> </ul> </li> </ol>
<b>IX. Evaluare psihologică și psihiatrică</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Examen psihologic <ul style="list-style-type: none"> <li>- S-au folosit matricile progresive Raven/ Scorul Wechsler Intelligence Scale for Children IV (WISC IV)/ A Developmental neuropsychological Assesment (NEPSY), în funcție de vârsta copiilor și individualizat, în funcție de necesitățile fiecărui caz în parte</li> </ul> </li> <li>2. Evaluare psihiatrie pediatrică</li> </ol>

### Capitolul 3. Rezultate si discutii

Rezultatele pacienților incluși în lot în ceea ce privește testarea genetică :

Metodele de testare au fost reprezentate de ArrayCGH (Comparative Genomic Hybridization Array), MLPA (Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification), secvențierea unei singure gene, panel encefalopatii epileptice, panel epilepsie WES (Whole Exome Sequencing).

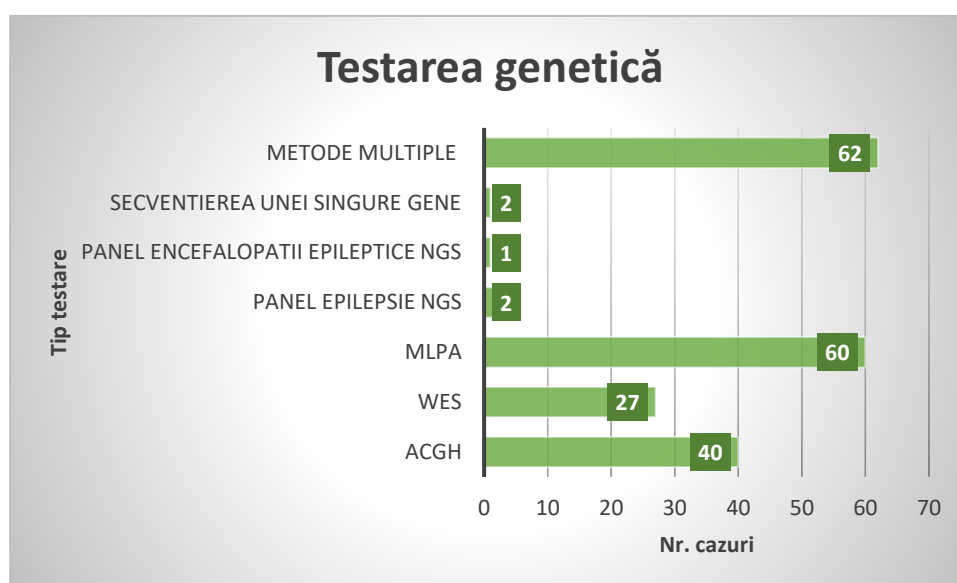
S-a optat pentru arrayCGH la pacienții care nu prezentau caracteristici clinico-paraclinice sugestive pentru încadrarea într-un anumit sindrom și așadar testarea țintită nu reprezenta o opțiune.

S-a optat pentru MLPA în cazul epilepsiilor asociate cu febră, sugestive pentru epilepsiile din cadrul GEFS+ , respectiv epilepsii asociate cu afectarea limbajului si aspect particular al EEG (ESES sau CSWS).



S-a optat pentru testare WES în cazul pacienților negativi la testare prin arrayCGH sau MLPA, însă cu argumente importante pentru etiologia genetică a epilepsiei sau ca primă metodă de testare în cazurile în care a fost necesar un rezultat rapid și cuprinzător și testarea s-a putut realiza și din punct de vedere financiar fiind o investigație cu costuri prohibitive în multe cazuri și nefiind decontată de Casa Națională de Asigurări de Sănătate.

Un număr de 62 de pacienți au fost testați prin metode multiple – majoritatea pacienților testați prin WES au fost anterior testați și prin alte metode, cu rezultate negative. De asemenea, pacienții testați prin MLPA cu rezultate negative însă cu



*Fig. 2 Distribuția pacienților testați în funcție de metodele de testare genetică folosite*

fenotip înalt sugestiv de epilepsie genetică au fost retestați prin secvențierea genei respective sau au beneficiat de testare prin panel de epilepsie/ encefalopatii epileptice, sau WES.

## IV. Concluzii, contribuții proprii și perspective

Studiul realizat a permis caracterizarea pacienților cu epilepsie de cauză genetică ale căror cazuri au fost urmărite în secția clinică de neurologie pediatrică a Spitalului Clinic de Copii “Dr. Victor Gomoiu” din București și elaborarea unui protocol de investigare care va putea fi folosit în viitoarele suspiciuni de epilepsie genetică.

În perioada octombrie 2016- august 2020 în clinică au fost investigate 1693 de cazuri de epilepsie, pacienții fiind cu vârste cuprinse între 1 lună-18 ani. Dintre toate cazurile de epilepsie, s-a suspionat o etiologie genetică la 55% dintre pacienți, la

aproximativ 2% (37 cazuri) etiologia epilepsiei fiind considerată mixtă- atât genetică cât și structurală/metabolică, restul de 43% fiind cuprins din epilepsii cu alte etiologii.

În cazul pacienților cu suspiciune de epilepsie genetică s-a constatat faptul că 398 cazuri (42 %) reprezintă epilepsii focale idiopatice, 235 de cazuri (25%) reprezintă epilepsii genetice generalizate iar 301 cazuri ( 33%) reprezintă alte epilepsii cu etiologie probabil genetică.

În grupul epilepsiilor focale idiopatice, aproximativ 85% nu au putut fi încadrați într-un sindrom epileptic considerându-se a fi epilepsii focale de cauză probabil genetică.

În grupul epilepsiilor genetice generalizate 28,5% au fost încadrate în epilepsie generalizată cu crize de tip absență a copilului, 14% în epilepsie cu crize de tip absență juvenilă, 37% în epilepsie mioclonică juvenilă, iar 20,3% nu au putut fi încadrați într-un sindrom clar definit.

În grupul epilepsiilor cu etiologie mixtă cazurile au fost reprezentate de scleroză tuberoasă, cazuri de displazii corticale focale, cazuri de schizencefalie, cazuri de polimicrogirie, cazuri de lisencefalie, un caz de epilepsie piridoxin-dependentă, un caz de deficit de GAMT și un caz de deficit GLUT-1.

S-a preferat temporizarea testării pentru:

- Cazurile care aparțin grupului de epilepsii generalizate genetice deoarece în literatură etiologia este considerată a fi poligenică și cu o importantă contribuție a factorilor epigenetici, iar diagnosticul se stabilește pe baza tipurilor clasice de crize epileptice corelate cu modificări electroencefalografice caracteristice.
- Cazurile cu etiologie mixtă, în care diagnosticul a fost cert și a explicat în totalitate cauza epilepsiei și s-a optat pentru testare genetică în cazurile în care diagnosticul genetic clinic și paraclinic (imagistic, analize de laborator țintite) nu a fost suficient. De exemplu, în cazurile de scleroză tuberoasă a fost testat un singur pacient care avea un tablou clinic incomplet la momentul prezentării, diagnosticul pozitiv fiind eminamente clinic în rândul pacienților cu acest tip de sindrom neurocutanat. De asemenea, în cazul epilepsiei piridoxin-dependente diagnosticul a fost stabilit prin probă terapeutică cu administrare de piridoxină sub monitorizare electroencefalografică și a funcțiilor vitale în timpul unei crize epileptice neimpunându-se, așadar, suplimentarea investigațiilor cu testare genetică, fiind cunoscută etiologia genetică a acestui tip de encefalopatie epileptică.
- Pacienții cu tulburări de migrare neuronală unde etiologia structurală s-a corelat cu fenotipul crizelor epileptice și cu modificările electroencefalografice

stabilindu-se astfel o relație cauză-efect, cu excepția unui singur pacient care a fost testat genetic.

În final, dintre pacienții cu suspiciune de epilepsie de cauză genetică au fost testați 12,3 %, respectiv 116 copii.

Grupul copiilor cu vârste cuprinse între 0-3 ani a fost cel mai numeros, frecvența testării genetice scăzând odată cu creșterea vârstei. Acest lucru se poate explica prin mai mulți factori identificați care corespund datelor din literatură precum faptul că debutul epilepsiilor genetice este frecvent la vârste mici.

În lotul nostru cea mai frecventă metodă de testare folosită a fost MLPA pentru detectarea mutațiilor SCN1A/SCN2A suspicionându-se diagnosticul de epilepsie din spectrul Dravet, care de regulă are debutul în primii 2 ani de viață. Pacienții incluși în studiu au fost evaluați în clinică în diferite etape ale evoluției lor – pacienți la prima opinie sau la a doua opinie medicală de specialitate.

Majoritatea pacienților au prezentat crize epileptice cu o frecvență moderată urmați îndeaproape de cei cu crize cu frecvență crescută, reprezentând așadar un criteriu important în decizia de a testa genetic acești pacienți. Cea mai mare parte dintre pacienți (56%) au prezentat modificarea aspectului crizelor epileptice în timp urmați îndeaproape de cei care au prezentat mai mult de un tip de crize epileptice (28%).

În lotul de pacienți testați pentru epilepsie de cauză probabil genetică din cadrul acestui studiu întâlnim asociate cel mai frecvent anomalii scheletice, afecțiuni oculare, tulburări endocrine și anomalii metabolice precum și anomalii hematologice și cardiace. Dintre pacienții testați 27% au asociat în tabloul clinic retardul mental, 7% autism și 13% ADHD (tulburare hiperkinetică cu deficit de atenție), în unele cazuri întâlnindu-se asocieri și între cele 3 entități patologice. De menționat faptul că retardul mental este mai grav în cazurile de encefalopatii epileptice și de dezvoltare având în vedere faptul că la acest lucru contribuie atât activitatea epileptiformă în sine, cât și alte mecanisme determinate genetic, acest aspect corelându-se cu datele din literatură. O proporție de 31% nu au prezentat comorbidități psihiatrice sau retard mental iar 18% dintre pacienți nu au fost evaluați psihiatric, beneficiind doar de evaluare psihologică.

Majoritatea pacienților (93%) au beneficiat de tratament antiepileptic medicamentos, un pacient a fost tratat exclusiv prin dietă cetogenică, un număr de 3 pacienți (2,5%) au beneficiat atât de medicație cât și de dietă, iar un număr de 3 pacienți (2,5%) au beneficiat de tratamente alternative, familiile refuzând terapiile

convenționale. Un procent de 44% dintre pacienții testați au prezentat farmacorezistență la medicația antiepileptică și nu au răspuns la folosirea a cel puțin 2 medicamente antiepileptice alese corect și administrate în doză terapeutică, reprezentând un motiv semnificativ pentru decizia de a testa genetic acești pacienți.

În ceea ce privește metodele de testare acestea au fost reprezentate de ArrayCGH (Comparative Genomic Hybridization Array), MLPA (Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification), secvențierea unei singure gene, panel encefalopatii epileptice, panel epilepsie WES (Whole Exome Sequencing).

Un număr de 62 de pacienți au fost testați prin metode multiple – majoritatea pacienților testați prin WES au fost anterior testați și prin alte metode, cu rezultate negative. De asemenea, pacienții testați prin MLPA cu rezultate negative însă cu fenotip înalt sugestiv de epilepsie genetică au fost retestați prin secvențierea genei respective sau au beneficiat de testare prin panel de epilepsie/ encefalopatii epileptice, sau WES.

40 pacienți au fost testați prin arrayCGH cu rezultat pozitiv în 4 cazuri, așadar o rată de diagnosticare de 10% iar 60 pacienți au fost testați prin MLPA, cu 6 rezultate pozitive (SCN1A, GRIN2A, CDKL5, MECP2) și rată de diagnostic de 10%.

Panelurile de gene au fost folosite în cazul a 3 pacienți – 2 pacienți fiind testați cu un panel pentru epilepsie, iar o pacientă fiind testată cu un panel pentru encefalopatii epileptice. Rata de diagnostic în cazul acestora a fost de 66% însă principala limitare este numărul extrem de mic al pacienților testați prin această metodă și indicația lor specifică- de exemplu în cazul pacientei diagnosticate cu encefalopatie epileptică cu mutație CDKL5 s-a optat direct pentru un panel de encefalopatii epileptice, deoarece fenotipul clinic era înalt sugestiv pentru acest diagnostic.

În lotul studiat, 2 pacienți au fost testați prin secvențierea unei gene, rata de diagnostic fiind 100%, limitările fiind similare ca în cazul panelurilor. Astfel au fost diagnosticate un caz de scleroză tuberoasă cu tablou clinic incomplet de boală și un caz de deficit de GLUT-1 care avea deja în familie (fratele) un membru diagnosticat genetic.

Prin WES au fost testați un număr de 27 de pacienți, la care rezultatele au fost modificate în cazul a 16 pacienți (59%) și negative la 11 (41%). În cazul WES este dificil de apreciat rata de diagnostic reală deoarece majoritatea pacienților la care au

rezultat variante mutaționale cu semnificație incertă, mutațiile respective puteau explica fenotipul clinic.

Cu toate acestea, un singur pacient a avut un rezultat cu semnificație cert patogenă fiind vorba despre o pacientă cu o mutație patogenă la nivelul genei CNKSR2, fiind un rezultat important deoarece în literatură, la acest moment, sunt descrise doar cazuri de pacienți de sex masculin care prezintă acest fenotip sever, sexul feminin prezentând fenotipuri blânde ale spectrului epilepsie-afazie.

În cazul a 14 pacienți (12%), în urma testării genetice, s-a stabilit un diagnostic de certitudine. Restul de 102(88%) pacienți au primit fie diagnostic incert la acest moment, fie un diagnostic negativ la momentul încheierii studiului. Acest fapt se explică prin faptul că stadiul de cunoaștere și descoperire a genelor implicate în epilepsie este la acest moment într-o continuă evoluție, fiind încă la început și noi mutații gene sunt raportate în literatură constant, nu toți pacienții au fost testați prin toate metodele de testare, iar în unele cazuri, chiar și după testări exhaustive fie nu s-a obținut un diagnostic genetic, fie variantele mutaționale rezultate nu s-au corelat cu fenotipul pacienților. De asemenea, trebuie ținut cont de faptul că epilepsiile genetice reprezintă un grup de boli rare.

În ceea ce privește managementul pacienților diagnosticați, în cazul a 10 pacienți există tratamente disponibile unde există dovezi științifice privind medicina de precizie , ținută pe genele identificate și mecanismele subiacente, rezultatul genetic influențând managementul lor ulterior. Astfel, în cazul mutației genei KCNQ2 s-a recomandat tratamentul cu blocante de canale de sodiu ca tratament antiepileptic (întrucât canalele de sodiu și cele de potasiu sunt co-localizate la nivelul membranei neuronale, iar subunitățile alfa au structuri similare la ambele categorii- Carbamazepina), cu evoluție favorabilă a pacientei, așadar testarea genetică a avut implicații și beneficii în managementul crizelor.

În cazul encefalopatiilor epileptice determinate genetic există la ora actuală din ce în ce mai multe dovezi privind beneficiile imunoterapiei asupra crizelor epileptice și a prognosticului pacienților (de ex: CNKSR2 și CDKL5 ).

În cazul spectrului Dravet (SCN1A, SCN9A, PCDH19) ținând seama de datele din literatură s-a ghidat tratamentul antiepileptic cu evitarea blocantelor canalelor de sodiu care pot agrava crizele epileptice.

În cazul sclerozei tuberoase tratamentul specific este reprezentat de everolimus, una din indicațiile sale intens studiate fiind crizele epileptice farmacorezistente.

Având în vedere datele din literatură, în cazul mutațiilor SLC2A1 care determină deficitul de GLUT-1 medicația antiepileptică nu aduce niciun beneficiu asupra crizelor epileptice, singurul tratament fiind reprezentat de dieta cetogenică, pacientul inclus în studiu având o evoluție bună sub acest tip de dietă.

Dintre toți pacienții testați genetic, 3 pacienți au beneficiat și de o testare personalizată prin test farmacogenomic ce poate ajuta la estimarea modului în care un pacient va răspunde la terapia medicamentoasă, bazat pe un profil genetic individual, având ca scop optimizarea beneficiilor terapeutice, identificarea tratamentului și dozajului farmacologic adecvat, precum și reducerea, în același timp, a riscului evenimentelor adverse. În cazul pacienților de asemenea acest tip de testare conduce la crearea unui protocol de urgență personalizat în caz de criză epileptică (și nu numai) pavând drumul spre optimizarea managementului individual.

Durata între debutul simptomatologiei și momentul diagnosticului genetic este foarte variabilă în lotul studiat cu o valoare medie de 2,5 ani, iar această observație ridică o problemă importantă privind cauzele întârzierii diagnosticului – lipsa accesului la servicii medicale, costuri prohibitive, lipsa specialiștilor de genetică medicală precum și excluderea altor cauze ale epilepsiei înainte de testarea genetică.

Limitele studiului au fost reprezentate în principal de faptul că grupul epilepsiilor genetice reprezintă un grup de boli rare, iar inclusiv la nivel mondial studiile realizate în această populație sunt multicentrice. De asemenea, lotul ales poate să nu fie reprezentativ pentru populația pediatrică diagnosticată cu epilepsie în România, studiul desfășurându-se într-un centru de excelență pentru boli neurologice rare, având o altă adresabilitate față de alte servicii de neurologie pediatrică. Trebuie ținut cont de asemenea de faptul că metodele de testare genetică au fost neuniforme și deși rezultatele au fost negative după prima testare, iar suspiciunea etiologiei genetice a epilepsiei s-a menținut, până la finalul studiului, nu s-a putut extinde testarea tuturor pacienților prin alte metode din mai multe motive. Pe de o parte disponibilitatea testării prin WES de exemplu, este redusă, tehnicile de NGS fiind disponibile în țară în doar două centre de genetică medicală, restul testărilor realizându-se prin colaborare cu centre private din țară și din străinătate. De asemenea, costul acestui tip de testare este unul prohibitiv în multe cazuri, nefiind o investigație decontată de Casa Națională de Asigurări de Sănătate, fiind de multe ori suportate de către părinți.

Va urma să reevaluăm cazurile pacienților noștri, cu continuarea testării lor și a membrilor familiilor lor pentru o mai bună caracterizare a relației genotip-fenotip în cazul mutațiilor indentificate.

Așadar, în urma studiului am identificat mutații noi pe care în urma analizei relației fenotip-genotip le-am propus pentru includere în bazele de date internaționale ale epilepsiilor genetice, prin raportarea lor în lucrările publicate în reviste ISI sau cu factor de impact. Astfel, din studiul retrospectiv al suspiciunii etiologiei genetice și corelarea cu literatura de specialitate a rezultat propunerea unei noi gene-candidat pentru epilepsie-gena NRXN3, precum și a două variante mutaționale KCNQ2, respectiv CNSKR2.

În cazul mutației KCNQ2 identificate, aceasta nu a mai fost raportată în literatură ca fiind patogenă, fenotipul și evoluția pacientei fiind un argument puternic în considerarea acesteia ca fiind probabil patogenă.

În ceea ce privește mutația genei CNSKR2, ce este particular este faptul că fenotipul pacientei a fost descris numai la pacienți de sex masculin, în cazul sexului feminin fiind descrise până în prezent doar fenotipuri aflate în partea mai puțin severă a spectrului epilepsie-afazie.

De asemenea, acest studiu a făcut posibil ca mai multe familii să obțină în cele din urmă un diagnostic definitiv și un risc de recurență corect pentru modificările identificate prin redirecționarea lor promptă către specialiștii de genetică medicală cu care am colaborat îndeaproape.

Am ridicat de asemenea un semnal de alarmă privind durata mare între momentul debutului simptomatologiei și cel al stabilirii unui diagnostic genetic, posibilitățile de testare în România și necesitatea colaborării interdisciplinare.