

**Univerzita Karlova v Praze
2. lékařská fakulta**

Studijní program:
Molekulární a buněčná biologie, genetik a virologie



Ing. Hana Zůnová

**Analýza genomických variant u pacientů s neurovývojovým onemocněním se
zaměřením na epilepsie**

*Analysis of genomic variants in patients with neurodevelopmental disorders focusing on
epilepsy*

Dizertační práce

Školitel: MUDr. Markéta Vlčková Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou dizertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité zdroje a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne 3. 4. 2023

Poděkování

Mé velké poděkování patří mé školitelce MUDr. Markétě Vlčkové Ph.D., za odborné vedení, motivaci, cenné rady, a především za čas, který na úkor vlastní rodiny věnovala mé osobě a této práci. Dále bych na tomto místě ráda poděkovala RNDr. Drahůši Novotné za podporu a možnost věnovat se projektu na oddělení lékařské cytogenetiky ÚBLG 2. LF UK a FN Motol. Velké poděkování patří také Mgr. Miroslavě Hančárově, Ph.D., RNDr. Zuzaně Slámové Ph.D. a MUDr. Pavlu Tesnerovi Ph.D., za cenné a přínosné připomínky a rady. Poděkování patří také mým kolegům a lékařům z ÚBLG 2. LF UK a FN Motol za podporu a pomoc nejen v odborné oblasti. Velké poděkování patří mé rodině, bez jejich podpory by se mi nepodařilo práci dokončit. Příteli děkuji za neutuchající podporu, nekonečné dávky optimismu a vloženou důvěru v to, že práci dokončím.

Práce vznikla s finanční podporou grantů Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky (AZV ČR) NU20-04-00279 a NU22-07-00165. Dále díky podpoře grantu MŠMT ČR (LM2018132) a v neposlední řadě díky interní podpoře FN Motol (00064203/6004).

Identifikační záznam

ZŮNOVÁ, Hana. *Analýza genomických variant u pacientů s neurovývojovým onemocněním se zaměřením na epilepsie [Analysis of genomic variants in patients with neurodevelopmental disorders focusing on epilepsy]*. Praha, 2023. 149 s., 1 příl. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol. Školitel: MUDr. Markéta Vlčková, Ph.D.

Abstrakt

Epilepsie patří mezi chronická neurologická onemocnění postihující celosvětově miliony lidí. Ačkoli dosud publikované poznatky poukazují na fakt, že genetické příčiny hrají v rozvoji epilepsií významnou roli, zůstává u řady pacientů genetická podstata neobjasněna.

Prezentujeme soubor 400 pacientů s epilepsií, u nichž bylo provedeno celogenomové vyšetření, zaměřené na detekci variant v počtu kopií (CNV). Kritériem pro zařazení do studie byl výskyt epilepsie v izolované formě, případně v kombinaci s dalšími neurovývojovými poruchami či vrozenými vývojovými vadami. Celogenomová analýza byla provedena metodou komparativní genomové hybridizace na čípech (aCGH) na platformě SurePrint G3 CGH ISCA v2 4x180K a 8x60K (Agilent Technologies). Ke zhodnocení klinické signifikance CNV byly použity dostupné databáze (DGV, ClinVar, OMIM, DECIPHER) a relevantní publikace.

V naší kohortě jsme detekovali celkem 2730 CNV z nichž 86 (detekovaných u 76 jedinců) bylo vyhodnoceno jako klinicky potenciálně relevantních – z toho 82 CNV s možným vlivem na rozvoj epilepsie a 4 CNV byly hodnoceny jako sekundární nález, který nevysvětloval fenotyp pacienta. S využitím současného klasifikačního systému bylo 21/86 uzavřeno jako patogenní, 12/86 jako pravděpodobně patogenní, 39/86 jako varianta nejasného klinického významu a 10/86 CNV jako varianta s vysokou frekvencí a nízkou penetrancí (tzv. HFLP). Původ aberace se podařilo uzavřít u 46/76 (61 %) jedinců.

Kromě rekurentních CNV a CNV v oblastech známých epileptických „hot-spotů“ byly detekovány také nerekurentní CNV v oblastech genomu, které nejsou v současné době s epilepsiemi spojovány a jejichž význam zůstává nejasný. V několika případech bylo pozorováno spolupůsobení několika aberací v rámci tzv. „*second-hit*“ modelu. V průběhu práce byl optimalizován diagnostický algoritmus, který přispívá k zefektivnění diagnostiky příčin epilepsie. Byla otestována námi navržená aCGH čipová platforma, která umožní ověřování nálezů CNV detekovaných masivně paralelním sekvenováním, jež bylo dosud obtížné. Klinická klasifikace variant je problematická, a ne vždy přináší očekávaný výsledek. Rozšiřování souboru pacientů, i za cenu detekce nejasných variant, je přínosné a „reanalýza“ těchto variant s odstupem času je nezbytným krokem, který může v budoucnu, na základě nových poznatků, přispět k objasnění genetických příčin rozvoje epilepsie.

Klíčová slova: epilepsie, neurovývojové onemocnění, varianty v počtu kopií (CNV), aCGH

Abstract

Epilepsy is a chronic neurological disease affecting millions of people worldwide. The etiology of epilepsy is heterogenous. Published studies confirm a strong genetic basis. While the genetic causes play a huge role in the development of epilepsy, the etiology remains unclear in many patients.

We present a cohort of 400 patients with epilepsy, who underwent whole genome testing focused on the detection of copy number variants (CNVs). The main criterion for inclusion into the group was manifestation of epilepsy in isolated form or in combination with other neurodevelopmental disorder or congenital anomalies. Genome-wide analysis was performed using two different platforms of array CGH (array comparative genome hybridization): SurePrint G3 CGH ISCA platform 4x180K and 8x60K (Agilent Technologies). For evaluation of clinical impact of detected CNVs different databases (DGV, ClinVar, OMIM, DECIPHER) and relevant articles were used.

In our cohort we have detected 2730 CNVs in total and 86 of them (detected in 76 individuals), were evaluated as possibly clinically relevant - 82 CNVs were evaluated as a possible cause of epilepsy and 4 of them were evaluated as secondary finding without relationship to the patients' phenotype. Regarding to the current classification, 21/86 CNVs have been referred as pathogenic, 12/86 as likely pathogenic, 39/86 CNVs as unclear and 10/86 CNVs were concluded as "high frequency, low penetrance variants" (HFLP). The origin of the aberration was confirmed in 46/76 (61 %) of cases.

In our cohort we have detected recurrent CNVs located in known epilepsy hot spots, as well as nonrecurrent CNVs. These CNVs were located in regions of the genome that are not currently associated with epilepsies and their clinical significance remains unclear, but contains genes, with possible impact in central nervous system function and development. In several cases, the interaction between two or more suspicious genomic variants, so called „*second hit*“ model, was observed. Diagnostic algorithm was set up to increasing efficiency of diagnostic odyssey. We present and introduce custom array CGH platform that allows verification of CNVs detected by massive parallel sequencing, which has been complicated until now. Clinical classification of variants is still not easy and does not always bring the expected results. Expanding the cohort of patients with CNVs of unknown clinical significance could be therefore beneficial. Reanalysis of such CNVs, based on new information is a necessary and may contribute to clarifying the genetic impact of these variant in patients with epilepsy.

Keywords: epilepsy, neurodevelopmental disorders, copy number variants, aCGH

Obsah

OBSAH	7
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	9
SEZNAM OBRÁZKŮ, GRAFŮ A TABULEK	12
1 ÚVOD	14
1.1 NEUROVÝVOJOVÁ ONEMOCNĚNÍ.....	14
1.2 EPILEPSIE.....	16
1.2.1 Genetické příčiny epilepsií.....	19
1.2.2 Malformace korového vývoje.....	22
1.3 VARIANTY V POČTU KOPIÍ (CNV).....	24
1.3.1 Mechanismus vzniku CNV.....	24
1.3.2 CNV jako příčina onemocnění.....	27
1.3.3 Klasifikace CNV.....	30
1.3.4 CNV u NVO.....	31
1.3.5 CNV u epilepsií.....	31
1.3.6 Metody detekce CNV.....	33
1.3.7 Komparativní genomová hybridizace na čipech.....	34
2 CÍLE PRÁCE	36
3 MATERIÁL A METODY	37
3.1 KOHORTA PACIENTŮ.....	37
3.2 CELOGENOMOVÁ ANALÝZA POMOCÍ ACGH.....	39
3.2.1 CNV „call“ a bioinformatická analýza.....	40
3.3 VYŠETŘENÍ SEGREGACE DETEKOVANÝCH VARIANT.....	43
3.4 DIAGNOSTICKÝ ALGORITMUS.....	44
3.5 DETEKCE SNV.....	46
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	47
4.1 CNV VYSKYTUJÍCÍ SE V SOUBORU OPAKOVANĚ.....	52
4.1.1 Duplikace a delece oblasti 15q11.2 (BP1-BP2).....	52
4.1.2 Duplikace oblasti Xp22.31.....	54
4.1.3 Delece a duplikace oblasti 16p11.2.....	56
4.1.4 Intragenové CNV zasahující gen <i>RBFOX1</i>	58
4.1.5 Intragenové CNV genu <i>NRXN1</i> (2p16.3).....	60
4.2 CNV DETEKOVANÉ V JEDNOTLIVÝCH SKUPINÁCH A–D.....	63
4.2.1 CNV detekované ve skupině A.....	67
4.2.1.1 Patogenní a pravděpodobně patogenní CNV.....	67
4.2.1.1.1 Patogenní duplikace 2q24.3 (E21024_♂).....	67
4.2.1.1.2 „Double hit“ v genu <i>PRRT2</i> (E21012_♂).....	68
4.2.1.1.3 Mikroduplikační syndrom 7q11.23 (E21057_♀).....	69
4.2.1.2 Varianty nejasného klinického významu.....	70
4.2.1.2.1 Intersticiální delece 16p13.3 (E18039_♀).....	70
4.2.1.2.2 Atypická duplikace oblasti Xp11.23 (E18100_♀).....	71
4.2.1.2.3 Dívka s projevy Noonanové sy., bez potvrzené genetické příčiny (E20027_♀).....	71
4.2.1.2.4 Delece oblasti 17q23.2q23.3 (E21009_♂).....	72
4.2.1.2.5 Intragenová duplikace genu <i>HUWE1</i> (E21036_♂).....	72
4.2.2 CNV detekované ve skupině B.....	73
4.2.2.1 Patogenní CNV.....	73
4.2.2.1.1 Epilepsie jako jediný projev pacienta s DiGeorgovým sy. (E20021_♂).....	73
4.2.2.2 Varianty nejasného klinického významu.....	74
4.2.2.2.1 Delece oblasti 5p15.31 (E19001_♀).....	74
4.2.3 CNV detekované ve skupině C.....	75
4.2.3.1 Patogenní a pravděpodobně patogenní CNV.....	77
4.2.3.1.1 Duplikace oblasti 17q12 a její segregace v rodině (E18056_♂).....	77
4.2.3.1.2 Komplexní chromozomová přestavba typu inv dup del (E18051_♂).....	77
4.2.3.1.3 Nebalancovaná translokace ve 30 % mozaice (E17049_♂).....	79
4.2.3.1.4 Zhu-Tokita-Takenouchi-Kim syndrom (E21054_♂).....	81
4.2.3.1.5 Intragenová <i>de novo</i> duplikace genu <i>FGF12</i> (E21039_♀).....	82
4.2.3.1.6 Pravděpodobně patogenní delece 15q21.3q22.31 (E18046_♂).....	82

4.2.3.1.7	Atypická duplikace 9q34.11q34.3 (E16021_♂).....	83
4.2.3.1.8	Duplikace oblasti Xp11.3 (E19073_♀).....	83
4.2.3.1.9	Rekurentní duplikace 22q11.2 (E16008_♂).....	85
4.2.3.2	Varianty nejasného klinického významu.....	85
4.2.3.2.1	Delece 1q23.3 (E20039_♂).....	85
4.2.3.2.2	Duplikace 2p22.2 (E19077_♂).....	86
4.2.3.2.3	Duplikace 2p25.3 (E18007_♀).....	87
4.2.3.2.4	Duplikace 2q22.2 (E20041).....	87
4.2.3.2.5	Delece exonu 2 genu CNTN6 (E17033_♂).....	88
4.2.3.2.6	Duplikace 6q16.3 (E20002_♀).....	88
4.2.3.2.7	Duplikace 7q11.22 (E21001_♂).....	88
4.2.3.2.8	Delece 10q23.1 (E21041_♀).....	89
4.2.3.2.9	Duplikace 11p11.2 (E21003_♂).....	90
4.2.3.2.10	Delece 11p13 (E20031_♂).....	90
4.2.3.2.11	Delece 13q34 (E17048_♂).....	91
4.2.3.2.12	Duplikace 16p13.2 (E19066_♀).....	91
4.2.3.2.13	Duplikace 16p13.2 (E21063_♂).....	92
4.2.3.2.14	Duplikace 17p13.3 (E17014_♀).....	92
4.2.3.2.15	30% mozaika duplikace 17p11.2q11.2 (E18058_♀).....	93
4.2.3.2.16	Duplikace 17q25.1 (E19034_♀).....	96
4.2.3.2.17	Duplikace 18q22.1 (E21027_♂).....	96
4.2.3.2.18	Delece 22q11.22q11.23 (E19018_♂).....	97
4.2.3.2.19	Delece Xp22.31 u chlapce s epilepsií (E17060_♂).....	97
4.2.4	CNV detekované ve skupině D.....	98
4.2.4.1	Pravděpodobně patogenní CNV.....	99
4.2.4.1.1	Duplikace 15q11.2q13.1 (E21042_♂).....	99
4.2.4.1.2	Duplikace 16p11.2 (E17070_♂).....	99
4.2.4.2	Varianty nejasného významu.....	100
4.2.4.2.1	Duplikace 2p13.1 (E18068_♂).....	100
4.2.4.2.2	„ <i>Second-hit</i> “ model u duplikace 15q13.3 (E19015_♂).....	101
4.2.4.2.3	Delece 7q31.1 (E19039_♀).....	103
4.2.4.2.4	Duplikace 4q12 (E21010_♀).....	103
4.2.4.2.5	Delece 1q44 (E21035_♀).....	103
4.3	CUSTOM ACGH.....	105
5	ZÁVĚR.....	108
6	LITERATURA.....	110
7	PŘÍLOHY.....	141

Seznam použitých zkratek

aCGH	Komparativní genomová hybridizace na čípech (array Comparative Genome Hybridization)
ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ADHD	Porucha pozornosti s hyperaktivitou (Attention Deficit Hyperactivity Disorder)
AD	Autozomálně dominantní
ADLTE	Autozomálně dominantní laterálně-temporální epilepsie (Autosomal Dominant Lateral Temporal Epilepsy)
ADNFLE	Autozomálně dominantní noční frontální epilepsie (Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy)
ADSHE	Autozomálně dominantní se spánkem asociovaná hypermotorická epilepsie (Autosomal Dominant Sleep related Hypermotor Epilepsy)
AR	Autozomálně recesivní
BAC	Umělý bakteriální chromozom (Bacterial Artificial Chromosome)
BAFME	Benigní familiární myoklonická epilepsie u dospělých (Benign Adult Familial Myoclonic Epilepsy)
BFIS	Benigní familiární infantilní záchvaty (Benign Familial Infance Seizures)
BFNC	Benigní familiární neonatální křeče (Benign Familial Neonatal Convulsions)
BP	Zlomové místo (Break Point)
CBZ	Karbamazepin
CGH	Komparativní genomová hybridizace (Comparative Genome Hybridization)
CNS	Centrální nervová soustava
CNV	Varianta v počtu kopií (Copy Number Variant)
Cy3, Cy5	Cyanin 3, Cyanin 5
DEE	Vývojové a epileptické encefalopatie, (Developmental and Epileptic Encephalopathy)
DECIPHER	Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources
DGV	Databáze genomických variant (Database of Genomic Variants)
DNA	Deoxyribonukleotidová kyselina
DLRSD	Derivate LogRatio Standard Deviation
dUTP	Deoxyuridin trifosfát
EEG	Elektroencefalografie
EF	Epigenetické faktory
EMA	Epilepsy with Myoclonic Absences
FAME	Familiární myoklonické epilepsie dospělých (Familial Adult Myoclonic Epilepsy)
FBTCS	Fokální křeče s přechodem na bilaterální tonicko-klonické křeče (Focal to Bilateral Tonic-Clonic Seizures)
FCD	Fokální kortikální dysplázie (Focal Cortical Dysplasia)
FISH	Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace (Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridization)
FNM	Fakultní nemocnice v Motole
FoSTeS	Blokování replikační vidlice a změny templatového vlákna (Fork Styling and Template Switching)
GABA	Kyselina γ -aminomáselná
GDP	Guanosindisfosfát
GEFS+	Generalizovaná epilepsie s febrilními křečemi

	(Generalized Epilepsy with Febrile Seizures)
GGE	Genetické, generalizované epilepsie (Genetic Generalized Epilepsy)
HFLP	Varianty s vysokou frekvencí a nízkou penetrancí (High Frequency, Low Penetrant)
HPO	Standardizovaná klasifikace fenotypových znaků (Human Phenotype Ontology)
IC	Imprintingové centrum
ID	Intelektová nedostatečnost (Intellectual Disability)
ILAE	International league against epilepsy
ISCA	International standards for Cytogenomics Arrays
JME	Juvenilní myoklonická epilepsie (Juvenil Myoclonic Epilepsy)
KDN	Klinika dětské neurologie
LCRs	sekvence o malém počtu kopií (Low Copy Repeats)
MAPs	Proteiny asociované s mikrotubuly (Microtubulus Associated Proteins)
MCD	Malformace korového vývoje (Malformation of Cortical Development)
MEPS	Minimální segment nepřerušené homologie (Minimal Efficient Processing Segment)
MLPA	Mnohonásobná ligace pomocí amplifikace práb (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification)
MPS	Masivní paralelní sekvenování (Massive Parallele Sequencing)
MRI	Magnetická resonance (Magnetic Resonance Imaging)
mTOR	Serin/threoninová kináza (mammalian Target Of Rapamycin)
NAHR	Nealelická homologní rekombinace (Non-Allelic Homologous Recombination)
NHEJ	Nealelické homologické spojování konců (Non-allelic Homologous End Joining)
NLS	Jaderný lokalizační signál (Nuclear Localization Signal)
NVO	Neurovývojové onemocnění
OMIM	Online Mendelian inheritance in Man
PAS	Porucha autistického spektra
PCR	Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
PDS	Paroxysmální depolarizační posun (Paroxysmal Depolarisation Shift)
PHE	Phenaemaletten
PMV	Psychomotorický vývoj
RNA	Ribonukleová kyselina (RiboNucleic Acid)
RRM	Motiv rozeznávající RNA (RNA Recognition Motif)
SD	Směrodatná odchylka (Standard Deviation)
SMEI	Závažná myoklonická epilepsie v dětství (Severe Myoclonic Epilepsy of Infancy)
SNARE	Receptor pro rozpustné, N-ethylmaleinmid senzitivní proteiny (Soluble N-ethylmaleinmide sensitive Attachment proteins Receptor)
snoRNA	Malá jaderková RNA (small nucleolar RNA)
SNV	Jednonukleotidová, bodová varianta (Single Nucleotide Variants)
SRO	Minimální společný region (Smallest Region of Overlap)
sSMC	Malý nadpočetný marker chromozom (small Supernumerary Marker Chromosome)
Sy	Syndrom
TLE	Temporální epilepsie (Temporal Lobe Epilepsy)
UK	Univerzita Karlova

ÚBLG	Ústav biologie a lékařské genetiky
UCSC	University of California Santa Cruz
VPA	Valproát
VUS	Varianta nejasného klinického významu (Variant of Unknown clinical Significance)
VVV	Vrozená vývojová vada
VEGF	Endoteliální růstový faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)
VEGFR	Receptor pro endoteliální růstový faktor (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)
WES	Celoexomové sekvenování (Whole Exome Sequencing)
WGS	Celoexomové sekvenování (Whole Genome Sequencing)
XLD	X-vázané dominantní (X-Linked Dominant)
XLR	X-vázané recesivní (X-Linked Recessive)
ZTTK	Zhu Tokita Takenuchi Kim syndrom
2. LF	2. Lékařská fakulta

Seznam obrázků, grafů a tabulek

Obrázek 1: Klasifikace epilepsií	18
Obrázek 2: Klasifikace epileptických záchvatů dle ILAE	18
Obrázek 3: Vývoj poznatků o genech zapojených do rozvoje epilepsií	21
Obrázek 4: Rekurentní a nerekurentní CNV	25
Obrázek 5: Strukturní aberace vznikající v souvislosti s NAHR	26
Obrázek 6: Princip mechanismus FoSTeS	27
Obrázek 7: CNV a mechanismus působení v souvislosti s rozvojem onemocnění	29
Obrázek 8: Základní princip metody komparativní genomové hybridizace	33
Obrázek 9: Základní postup metody aCGH	39
Obrázek 10: Používaný, zjednodušený algoritmus hodnocení klinické signifikance detekovaných CNV	42
Obrázek 11: Navržený diagnostický algoritmus	45
Obrázek 12: Znázornění polohy detekovaných klinicky potenciálně relevantních CNV	51
Obrázek 13: CNV oblasti 15q11.2, detekované mezi zlomovými místy BP1 – BP2	53
Obrázek 14: Duplikace chromozomové oblasti Xp22.31	55
Obrázek 15: Porovnání fenotypů u mužů a žen s duplikací Xp22.31	56
Obrázek 16: CNV v chromozomové oblasti 16q11.2	57
Obrázek 17: Intragenové CNV v genu <i>RBFOX1</i>	58
Obrázek 18: Struktura genu <i>RBFOX1</i>	59
Obrázek 19: Poloha detekovaných delecí v rámci genu <i>NRXN1</i>	60
Obrázek 20: Delece <i>NRXN1</i> a jejich výskyt u kontrolní skupiny a jedinců s afekcí	62
Obrázek 21: Výsledky vyšetření u pacienta E18051	79
Obrázek 22: Výsledek vyšetření metodou aCGH u pacienta E17049	80
Obrázek 23: Vyšetření buněk bukalního stěru metodou FISH s použitím sond pro oblast 2pter a 2qter	81
Obrázek 24: Geny z duplikovaného regionu, jejichž aberace vedou k rozvoji epilepsie, hypotonie, makrocefalie, vývojového opoždění a faciální dysmorfie.	84
Obrázek 25: Výsledek vyšetření karyotypu u vzorku E18058	94
Obrázek 26: Výsledek vyšetření metodou FISH u vzorku E18058	95
Obrázek 27: Výsledek aCGH u pacientky E18058	95
Obrázek 28: Znázornění rozsahu duplikace u dvou publikovaných případů a pacientky E18058.	96
Obrázek 29: Chromozomová oblast 15q13.1q13.3	102
Obrázek 30: Porovnání rozložení sond u komerčních čipů 8x60K a 4x180K a custom array platformy u genu <i>ERCC6</i>	105
Obrázek 31: Rozložení diagnostických sond u exonu 19. – 20. genu <i>ERCC6</i>	106

Graf 1: Věkové rozložení souboru pacientů v době vyšetření.....	37
Graf 2: Procentuální zastoupení pacientů dle definovaných skupin (A-D) ve vyšetřované kohortě	38
Graf 3: Klasifikace všech (2730) detekovaných CNV	47
Graf 4: Typ detekovaných CNV	48
Graf 5: Klinická klasifikace detekovaných variant	49
Graf 6: Původ detekovaných CNV	50
Graf 7: Počet CNV a podíl duplikací a delecí na jednotlivých chromozomech.....	50
Graf 8: Zastoupení klinicky suspektně relevantních CNV ve skupinách A–D	63
Tabulka 1: Dědivost vybraných NVO	15
Tabulka 2: Vybrané geny, jejichž aberace vedou k rozvoji kanálopatí.....	20
Tabulka 3: Příklady CNV spojovaných s epilepsiemi.....	32
Tabulka 4: Porovnání a specifikace použitých aCGH platforem	40
Tabulka 5: Seznam FISH sond použitých u jednotlivých případů	43
Tabulka 6: Rekurentní a nerekurentní CNV detekované u více než jednoho pacienta bez ohledu na jeho zařazení do skupiny dle klinického obrazu	52
Tabulka 7: Varianty nejasného klinického významu a zasažené, potenciálně kauzální gen(y).....	64
Tabulka 8: Pravděpodobně patogenní a patogenní CNV	65
Tabulka 9: CNV detekované u pacientů ze skupiny A.....	67
Tabulka 10: CNV detekované u pacientů ze skupiny B	73
Tabulka 11: CNV detekované u pacientů ze skupiny C	75
Tabulka 12: Patogenní CNV ve skupině C.....	77
Tabulka 13: CNV detekované u pacientů ze skupiny D.....	98
Tabulka 14: Geny zasažené duplikací 2p13.1	101
Tabulka 15: Porovnání nálezu na platformách ISCA 8x60K a Custom 4x180K.....	106

1 ÚVOD

1.1 Neurovývojová onemocnění

Neurovývojová onemocnění (NVO) jsou skupinou chronických onemocnění, jejichž společným a charakteristickým znakem je postižení centrálního nervového systému (CNS) v raných fázích vývoje. Vlivem postižení dochází k opoždění a poruše vývojových dovedností z oblastí motorických, kognitivních, sociálních a komunikačních (Jeste 2015; Ismail et al. 2019). NVO jsou heterogenní skupinou jak z hlediska klinických projevů, tak z hlediska příčin a léčby (Thapar et al. 2017).

K postižení CNS může docházet z různých důvodů, jako jsou hypoxie, traumata, expozice toxinům, infekce, nebo imunologické, nutriční, metabolické a genetické příčiny či strukturní malformace. Patofyziologie působení těchto mechanismů není ve všech případech zcela objasněna a zůstává předmětem zájmu mnoha studií. Léčba NVO je v současné době spíše symptomatická a podpůrná (Ismail a Shapiro 2019). Míra postižení jedince závisí na stupni a rozsahu poškození CNS a může se projevit jednotlivými izolovanými poruchami, nebo častěji jejich kombinací (Ismail et al. 2019; Parenti et al. 2020). Populační studie například prokázaly zvýšenou prevalenci výskytu intelektové nedostatečnosti (ID, Intellectual Disability) u dětí s dětskou mozkovou obrnou či poruchu komunikačních schopností u pacientů s poruchou pozornosti a hyperaktivitou (ADHD; Attention Deficit and Hyperactivity Disorder) (Korrel et al. 2017; Reid et al. 2018).

Mezi NVO patří ADHD, poruchy autistického spektra (PAS), vývojové opoždění, ID, schizofrenie, bipolární porucha a dle některých autorů i některé formy epilepsie, konkrétně vývojové a epileptické encefalopatie (DEE – Developmental and Epileptic Encephalopathy, dříve epileptické encefalopatie) (Jeste 2015; Parenti et al. 2020).

Na etiologii NVO se podílejí tři základní faktory – genetické, environmentální a epigenetické. Jednotlivé faktory mohou působit samostatně, častěji však dochází ke spolupůsobení těchto vlivů a proto by NVO měla být chápána jako multifaktoriální onemocnění a to i v případě, že se podaří identifikovat vysoce penetrantní kauzální variantu (Loo et al. 2007; Thapar et al. 2017).

Genetické faktory

Poměrně vysoká míra dědivosti NVO potvrzuje významný podíl genetické komponenty v jejich etiologii (*Tabulka 1*). Konkrétní kauzální geny však zůstávají často neznámé. Varianty v genomu, které způsobují ztrátu či nadbytek genů citlivých na dávku,

nebo vedou k narušení integrity genu, mohou ve svém důsledku vést k rozvoji NVO (Lupski 1998). Tyto geny jsou exprimovány především v raných fázích vývoje mozku a jsou součástí řady biologických drah. Jednou z běžných příčin ohrožujících normální vývoj CNS je narušení genů zapojených do pre i postsynaptických procesů, zahrnujících mimo jiné i kanálopatie (Parenti et al. 2020; Leblond et al. 2021).

Tabulka 1: Dědivost vybraných NVO

PAS: porucha autistického spektra, ADHD: porucha pozornosti s hyperaktivitou;

GGE: genetická generalizovaná epilepsie, NVO: neurovývojové onemocnění

NVO	Dědivost	Zdroj
PAS	64 - 91 %	Tick et al. 2016
Schizofrenie	60 - 80 %	Trubetskoy et al. 2022
ADHD	88 %	Larsson et al. 2014
GGE	32 %	International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies, 2018
Bipolární porucha	60 %	Johansson et al. 2019
Dyslexie	40 - 70 %	Erbeli, Rice, a Paracchini 2021
Obsedantně kompulzivní porucha	22,5 %	Khramtsova et al. 2019

Z hlediska genetických příčin je možné NVO rozdělit do čtyř skupin, a to na NVO způsobená aneuploidiemi, variantami v počtu kopií (CNV, Copy Number Variants) a bodovými variantami (SNV, Single Nucleotide Variant) - u těchto tří skupin je genetická komponenta z pravidla hlavní příčinou NVO. Čtvrtou skupinu představují NVO s komplexní dědičností, na jejichž manifestaci se kromě genetických faktorů významně podílejí i další faktory, obvykle environmentální nebo epigenetické (Loo et al. 2007).

Environmentální faktory

Environmentální faktory (EF) neboli faktory vnějšího prostředí patří mezi možné spolupůsobící příčiny NVO (Doi et al. 2022). EF hrají v etiologii NVO významnou roli a přispívají k jejich klinické heterogenitě. Zásadní je především druh a doba působení rizikového EF (Doi et al. 2022). Mezi EF patří například věk rodičů při početí, infekční onemocnění, stav výživy, působení toxinů či nadměrná stresová zátěž.

Působením EF na rozvoj NVO se zabývá řada studií. Ucelenou přehledovou práci, která vychází z hodnocení 140 již publikovaných studií dvojčat a sourozenců, předložil Carlsson et al. 2020. Autoři v závěru potvrzují vliv EF, jako je pokročilý věk otců, nízká porodní váha, perinatální hypoxie a respirační stres na riziko rozvoje PAS. Nízká porodní hmotnost či gestační stáří je spojováno s rizikem rozvoje ADHD. Naopak krvácení během těhotenství, preeklampsie, gestační diabetes či vliv císařského řezu s rozvojem PAS

nesouvisí, respektive nebyl dostatečně potvrzen. U ADHD je negována spojitost s užíváním antidepresiv, maternální infekcí či kouřením během těhotenství. Z hlediska epilepsie byla pozorována souvislost vyššího rizika rozvoje s vysokými hladinami železa v organismu (feritin a transferin) a s kouřením (Yuan et al. 2021).

Epigenetické mechanizmy

Epigenetické mechanizmy jsou procesy, které ovlivňují expresi genů bez zásahu do integrity DNA (deoxyribonukleová kyselina) (Holliday et al. 1975). Patří mezi ně metylace DNA, remodelace chromatinu a modifikace histonů (Gropman et al. 2010; Lewis et al. 2018; Salinas et al. 2020). Tyto mechanizmy většinou nepůsobí samostatně, ale dochází k jejich vzájemné interakci (Lewis et al. 2018; Salinas et al. 2020). Vývoj CNS je řízen řadou genů, jejichž exprese je v průběhu vývoje CNS proměnlivá a je regulována mimo jiné právě epigenetickými mechanizmy. Tato regulace je nezbytná pro správnou migraci buněk v průběhu vývoje CNS i pro udržení jejich diverzity (Takizawa et al. 2001; Sakashita et al. 2001; Salinas et al. 2020) a uplatňuje se především v období embryogeneze (Li et al. 1993). Nejlépe popsáným mechanismem epigenetických modifikací je metylace DNA. Methylace DNA ve vyvíjejícím se mozku je poměrně dynamická především v prvním a druhém trimestru těhotenství. Oblasti vykazující změny v metylaci jsou nazývány vývojově regulované diferenciatně methylované oblasti, které byly ve zvýšené míře detekovány v oblastech genomu, které jsou asociovány s PAS a schizofrenií (Spiers et al. 2015). Methylace DNA se uplatňuje také při vývoji neuronů. Příkladem může být vliv metylace na expresi genu *GFAP*. Zatímco hypermethylace promotoru genu *GFAP* potencuje neurogenezi, hypomethylace indukuje vývoj astrocytů (Takizawa et al. 2001). Dysregulace epigenetických procesů, vedoucí k narušení exprese genů, je jednou z příčin rozvoje NVO (Loke et al. 2015; Hsieh et al. 2016; Lewis et al. 2018).

1.2 Epilepsie

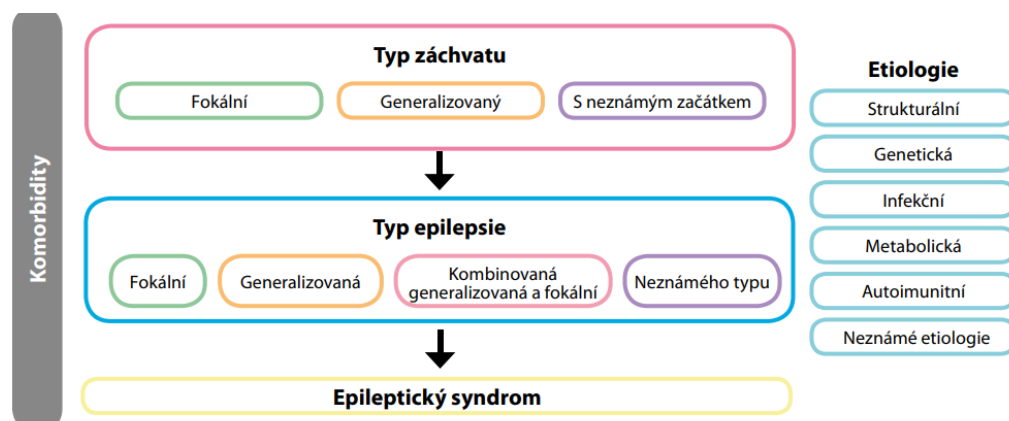
Epilepsie jsou definovány jako onemocnění, při kterém je splněno alespoň jedno z nastavených kritérií: „1) výskyt ≥ 2 nevyprovokovaných nebo reflexních záchvatů s odstupem delším než 24 hodin; 2) rozvoj nevyprovokovaného nebo reflexního záchvatu, u osoby, u které existuje alespoň 60% riziko recidivy v následujících 10 letech, 3) rozvoj epileptického syndromu“ (Fisher et al. 2014). Společným znakem je trvalá predispozice k nepředvídatelnému narušení normální funkce CNS, tzv. epileptickému záchvatu. Jako epileptický záchvat je označován přechodný výskyt symptomů, které jsou způsobené

abnormální nadměrnou neurální aktivitou mozku. Epileptický záchvat může postihovat senzorické, motorické a kognitivní funkce, vědomí, paměť, emoční stav i chování. Manifestace je závislá na mnoha faktorech jako zralost mozku, lokalizace ohniska záchvatu, lékové interakce atd. (Fisher et al. 2005). Součástí zavedené terminologie je také pojem epileptický syndrom (sy.), který je definován jako komplex společně se vyskytujících příznaků, jako je typ záchvatu či abnormality elektroencefalografie (EEG). Epileptický záchvat často bývá věkově specifický (Scheffer et al. 2017). Důležité je odlišení epilepsie od záchvatových stavů, které se manifestují v souvislosti s jiným akutním poškozením mozku (úrazy hlavy, krvácení do CNS, toxické postižení, náhlé metabolické změny). Tyto záchvaty jsou označovány jako akutní symptomatické provokované křeče a nespádají do definice epilepsií (Mauritz et al. 2022).

Incidence a prevalence epilepsií ve světě vykazuje značné rozdíly. V Evropě je incidence odhadována na 43-47/100000/rok (Forsgren et al. 2005). Dle novější studie je celková incidence vypočítána na 61/100 000/rok (Fiest et al. 2017). Incidence epilepsií je ovlivněna věkem. Nejvyšší byla pozorována u dětí do jednoho roku života a u osob nad 85 let (Fiest et al. 2017; Beghi 2020). Vyšší incidence byla pozorována také u mužů (Christensen et al., 2007; Fiest et al., 2017; Beghi, 2020).

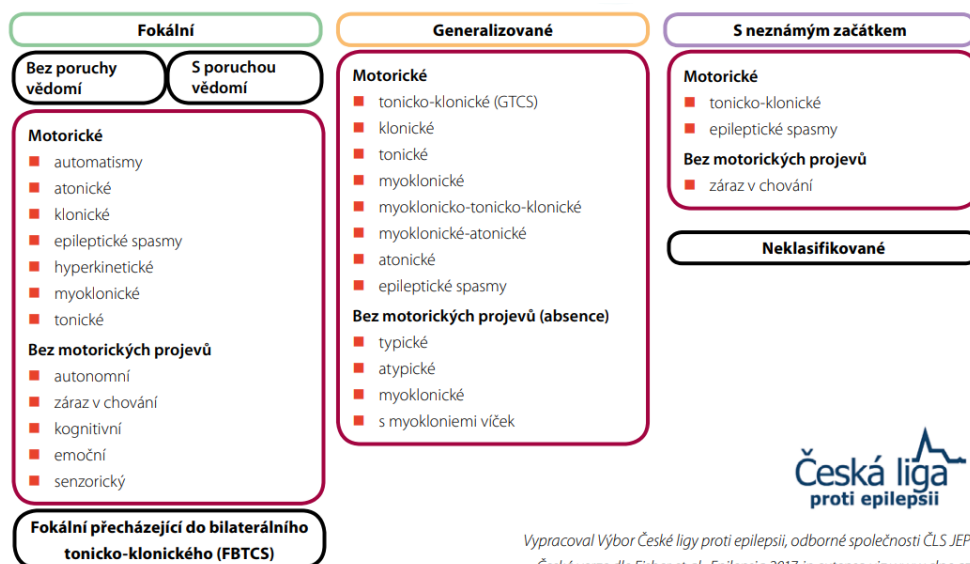
Prevalence epilepsií vykazuje rovněž značné rozdíly. Dle Fiest et al., 2017 je celková prevalence epilepsií odhadována na 7,6/1000. Prevalence, stejně jako incidence vykazuje rozdíly v souvislosti se zvyšujícím se věkem (Fiest et al., 2017; Beghi, 2020).

Klasifikace epilepsií, epileptických záchvatů a epileptických sy. prodělala v průběhu let významné změny (Gastaut, 1969; Engel and International League Against Epilepsy (ILAE) 2001; Berg et al. 2013). Největší změnou byla reklasifikace skupiny idiopatických epilepsií na genetické epilepsie (Thomas et al. 2014). V současné době je používána klasifikace z roku 2017 (*Obrázek 1*), která definuje typy epilepsií, epileptických záchvatů a epileptických sy. (Scheffer et al. 2017). Epilepsie jsou dle nejnovější klasifikace děleny do čtyř skupin: fokální; generalizované; kombinované a nejasné. U jednotlivých typů záchvatů je klasifikace rozsáhlejší a je pro přehlednost znázorněna v *Obrázku 2* (Fisher et al. 2017; Pack 2019). Epileptické sy. jsou děleny na generalizované, fokální a vyprovokované.



Vypracoval Výbor České ligy proti epilepsii, odborné společnosti ČLS JEP
Česká verze dle Schaffer et al., *Epilepsia* 2017, in extenso viz www.clope.cz

Obrázek 1: Klasifikace epilepsií
(převzato z „ČLPE | Česká liga proti epilepsii“ b.r.)



Vypracoval Výbor České ligy proti epilepsii, odborné společnosti ČLS JEP
Česká verze dle Fisher et al., *Epilepsia* 2017, in extenso viz www.clope.cz

Obrázek 2: Klasifikace epileptických záchvatů dle ILAE
(převzato z „ČLPE | Česká liga proti epilepsii“ b.r.)

Etiologie epilepsií je značně heterogenní. Dle klasifikace z roku 2017 je rozlišeno šest etiologických skupin – genetické, strukturální, imunitní, infekční, metabolické a neznámé. S výjimkou infekčních příčin existuje u všech ostatních skupin přesah do skupiny epilepsií s genetickou příčinou, jelikož strukturální změny, abnormality metabolismu i imunity mohou být způsobeny patogenními SNV v určitých genech (Pack, 2019).

Základní podstatou rozvoje epileptického záchvatu je nadměrná excitabilita neuronů, způsobená narušením rovnováhy mezi fyziologickými procesy excitace a inhibice neuronální aktivity (Penry et al. 1979). Tato rovnováha je udržována pomocí selektivních iontových kanálů, neurotransmiterů a jejich receptorů.

Iontové kanály ovlivňují membránový potenciál a s ním související elektrický a chemický gradient, který je důležitý pro normální funkci a přenos signálů v CNS (Scharfman 2007). Za normálních okolností je membránový potenciál udržován na hodnotě -60mV . Dojde-li k dočasnému (fyziologickému) vychýlení, dochází buď k depolarizaci, jejímž výsledkem je uvolnění neurotransmiterů, nebo vzniká akční potenciál (Somjen 2002). Je-li však depolarizace trvalejšího rázu, dochází k hyperexcitaci a následně k rozvoji tzv. PDS (Paroxysmal Depolarisation Shift), jenž je podstatou epileptického záchvatu (Armijo et al. 2005). Nadměrná excitabilita sama o sobě záchvat nevyvolá. Nutné je poškození více neuronů, a to díky šíření postsynaptických signálů (Johnston et al. 1984). V tomto procesu, označovaném jako synchronizace, byla prokázána role tzv. GAP-junction (Traub et al. 2004).

Epilepsie se mohou projevit samostatně, častěji jsou však doprovázeny komorbitami. Nejčastěji jsou u pacientů s epilepsií popisovány neurobehaviorální komorbidity jako je deprese, obsesivně kompulzivní poruchy, panické poruchy, úzkosti či psychózy (Salpekar et al. 2019; Hermann et al. 2021; Arulsamy et al. 2022). U dětských pacientů je popisováno navíc riziko rozvoje ADHD, PAS a ID (Russ et al. 2012; Auvin et al. 2018; Dagar et al. 2020).

1.2.1 Genetické příčiny epilepsií

Poznatky z minulých i současných studií potvrzují silný genetický základ epilepsií (Sillanpää et al. 1991; Berkovic et al. 1998; Miller et al. 1998; Kjeldsen et al. 2001; Myers et al. 2015; Thakran et al. 2020; Perucca et al. 2020). Dle prvních studií u monozygotních dvojčat se dědivost epilepsií pohybovala v rozmezí 25-70 % (Miller et al. 1998). Studie, založená na pozorování dědivosti u fokálních a generalizovaných epilepsií, stanovila dědivost na 32 % (Speed et al. 2014). Novější studie pak udávají, že 70 - 80 % epilepsií je způsobeno genetickými faktory (Myers et al. 2015; Wang et al. 2017). Většina epilepsií vykazuje multifaktoriální typ dědičnosti (Zifkin et al. 2005; Hempelmann et al. 2006; Helbig et al. 2013). Pravděpodobnost působení dalších faktorů byla potvrzena i v jiných studiích (Berkovic et al. 2006; Chen et al. 2017).

První popsanou genetickou příčinou epilepsie byla patogenní varianta v genu *CHRNA4*, kódujícím podjednotku acetylcholinového receptoru, detekovaná u pacientů s autozomálně dominantní noční frontální epilepsií (ADSHE, Autosomal Dominant Sleep Related Hypermotor Epilepsy, dříve ADNFLE, Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy)[OMIM:600513, ORPHA:98784](O. K. Steinlein et al. 1995). Patogenní

SNV byly popsány i u dalšího genu kódujícího acetylcholinové receptory. Jednalo se o gen *CHRNA7* u pacientů s centrotemporální epilepsií (Neubauer et al. 1998).

Podíl v epileptogenezi mají také patogenní SNV v genech kódujících receptory proinhibičních neurotransmiterů (GABA, kyselina γ – aminomáselná). Byly popsány například SNV v genu *GABRA1* (Cossette et al. 2002) u generalizované epilepsie s febrilními křečemi (GEFS+, Generalized Epilepsy with Febrile Seizures), juvenilní myoklonické epilepsie (JME, Juvenile Myoclonic Epilepsy) a *GABRG2* u „idiopatické“ epilepsie (Baulac et al. 2001).

Velkou skupinu geneticky podmíněných epilepsií tvoří tzv. kanálopatie, které jsou důsledkem patogenních SNV i CNV v genech kódujících proteinové podjednotky napětím či ligandem řízených kanálů (Hess 1996). Kanálopatie byly popsány u řady pacientů s epilepsií a epileptickými sy. (Tabulka 2) (Lehmann-Horn et al. 1999; Ptáček 1999; Lerche et al. 2001; Moulard et al. 2001; Hirose et al. 2002; Steinlein 2002; Mulley et al. 2003; Armijo et al. 2005).

Tabulka 2: Vybrané geny, jejichž aberace vedou k rozvoji kanálopatí

V tabulce jsou uvedeny příklady genů, kódující podjednotky transportních kanálů a jejichž mutace jsou asociovány s rozvojem různých typů epilepsií. BFNC: benigní familiární neonatální křeče, GEFS+: generalizovaná epilepsie s febrilními křečemi, GGE: genetická generalizovaná epilepsie, JME: juvenilní myoklonická epilepsie, SMEI: závažná myoklonická epilepsie v dětství

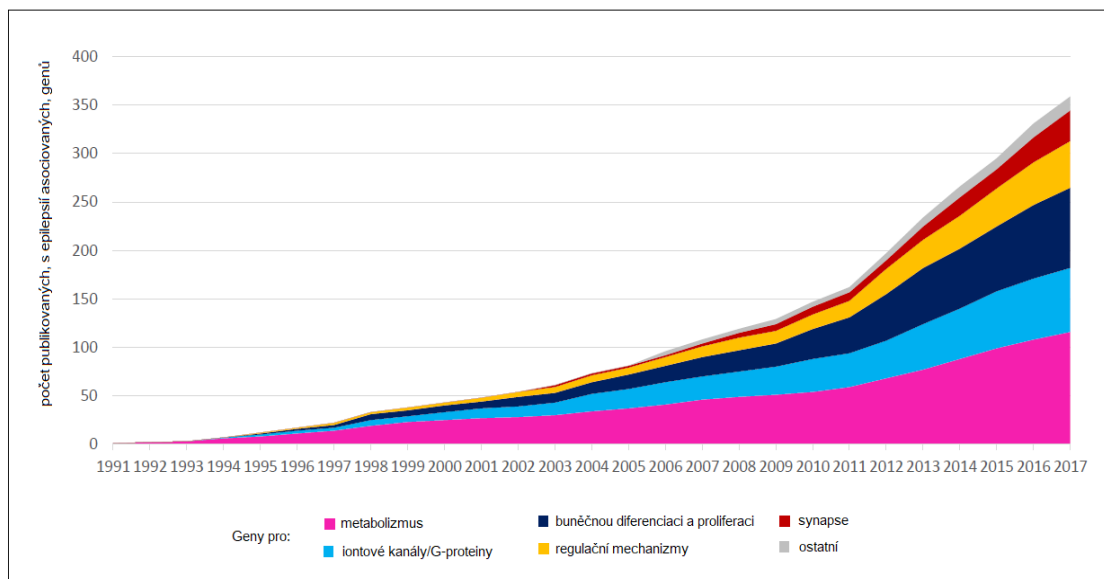
Typ epilepsie	Gen	Zdroj
BFNC	<i>KCNQ2</i>	Biervert et al. 1998; Biervert et al. 1999
BFNC	<i>KCNQ3</i>	Charlier et al. 1998; Hirose et al. 2000
GEFS +	<i>SCNB1</i>	Wallace et al. 1998
GGE Absence s časným nástupem	<i>CACNA1A</i>	Chioza et al. 2001 Jouveneau et al. 2001
JME	<i>CACNB4</i>	Escayg et al. 2000
SMEI	<i>SCN1A</i>	Escayg et al. 2001; 2000; Wallace et al. 2001

Kromě genů kódujících podjednotky kanálů a receptorů byly prokázány patogenní SNV v genech pro enzymy, signální molekuly, cytoskeletální proteiny, proteiny účastnící se remodelace chromatinu či regulace transkripce (Carvill et al., 2013; Thomas et al. 2014; Wang et al. 2017; Parrini et al. 2017; Symonds et al. 2020). Wang et al., 2017 publikovali celkem 977 genů z databáze OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), spojovaných s rozvojem epilepsie. Tyto geny rozdělili do čtyř skupin: geny související s epilepsií, geny způsobující genetické sy. s epilepsií jako hlavním znakem, geny zodpovědné za vývoj

mozku, a nové, potenciálně kauzální geny (Wang et al. 2017). U skupiny genů zodpovědných za vývoj mozku je epilepsie spíše sekundárním znakem, rozvíjejícím se v souvislosti s malformacemi CNS. Příkladem jsou patogenní SNV genu *TSC1* u tuberózní sklerózy (Nellist et al. 2009).

Pro epilepsie je typická významná genetická heterogenita, kdy jeden typ epilepsie může být vyvolán patogenními variantami v různých genech (Lesca et Depienne, 2015; Myers et al. 2015). Příkladem může být již zmíněná ADSHE způsobená patogenními variantami v genech *CHRNA2*, *KCNT1*, *ENFL2* i *CHRNA4*. Naproti tomu různé patogenní varianty v jednom genu mohou způsobovat různé fenotypy s odlišnou klinickou prognózou. V některých případech je variabilní expresivita popisována i v rámci jedné rodiny u postižených členů nesoucích identickou patogenní variantu. Příkladem jsou patogenní varianty v genu *SCN1A*, popsané u pacientů se sy. Dravetové, GEFS+ i u pacientů s febrilními křečemi (Escayg et al. 2000, Escayg et al. 2001; Claes et al. 2001)

Rozvoj celogenomových metod, jako je komparativní genomová hybridizace na čípech (aCGH, array-Comparative Genome Hybridization) či masivně paralelní sekvenování (MPS, massive parallel sequencing), vedl k nárůstu identifikace genů a aberací spojených s rozvojem epilepsií (Obrázek 3). Společným znakem většiny „epileptických“ genů je vysoká míra exprese v mozku a snížená míra tolerance k jejich poškození.



Obrázek 3: Vývoj poznatků o genech zapojených do rozvoje epilepsií
(převzato a upraveno dle Symonds et al. 2020)

Do etiologie epilepsií mohou být, kromě nejčastěji popisovaných SNV a CNV, zařazeny také expanze repetitivních sekvencí. U progresivní myoklonické epilepsie, také označované jako Unverricht-Lundborg sy., byla detekována expanze repetitivních sekvencí v promotoru genu *CSTB* (Lalioi et al. 1997). Expanze pentanukleotidových repetitivních sekvencí u několika genů (*STARD7*, *MARCH6*, *YETS2*) byla popsána také u familiární myoklonické epilepsie dospělých (FAME, Familial Adult Myoclonic Epilepsy) (Corbett et al. 2019; Florian et al. 2019; Yeetong et al. 2019). Zvýšené riziko rozvoje epilepsie je popisováno také v souvislosti s expanzí hypermetylovaných repetitivních sekvencí CGG v promotoru genu *FMRI*, známého pod názvem sy. fragilního X (Sabaratnam et al. 2001; Hagerman et al. 2009; Albizua et al. 2022). Nejnovější studie od Berry-Kravis et al., 2021 popisuje ve skupině 1 607 jedinců se sy. fragilního X rozvoj epilepsie u 12 % jedinců (193/1607).

Dalším možným mechanismem vedoucím k rozvoji epilepsií jsou epigenetické změny. Nejvíce jsou známy změny metylace (Kobow et al. 2012; Miller-Delaney et al., 2012). U myších modelů byly prokázány změny metylace u více než 300 genů (Miller-Delaney et al. 2012). Hypermetylace promotoru genu *RELN*, kódujícího glykoprotein reelin syntetizovaný GABAergními neurony (Alcántara et al. 1998; Pesold et al. 1998), byla detekována u pacientů s temporální epilepsií (TLE, Temporal Lobe Epilepsy) (Kobow et al. 2009).

Z hlediska větších chromozomových přestaveb představují určité riziko pro rozvoj epilepsií také balancované translokace. U těchto typů přestaveb je podstatný genový obsah v místě zlomu. Příkladem je nález t(6;22)(p21.33;q11.21) u pacienta s EMA (Epilepsy with Myoclonic Absences) (Klitten et al. 2011). V tomto případě je příčinou disrupce genu *SYNGAP1*, lokalizovaného v místě zlomu na chromozomu 6. Gen kóduje Ras-GTPázový protein, zapojený do regulace synaptického přenosu signálu prostřednictvím *N*-metyl-D-aspartátového receptoru (Chen et al. 1998; Kim et al. 1998).

1.2.2 Malformace korového vývoje

Malformace korového vývoje (MCD, Malformation of Cortical Development) zahrnují velkou heterogenní skupinu strukturních mozkových anomálií, pro které je charakteristické narušení vývoje mozkové kůry vlivem působení infekčních, genetických, vaskulárních nebo metabolických faktorů. MCD jsou děleny do tří skupin: a) MCD způsobené poruchou proliferace, diferenciací a apoptózy neuronů; b) MCD způsobené poruchou migrace neuronů a c) MCD způsobené abnormálním post-migračním kortikálním vývojem (Severino et al. 2020). Mezi MCD patří například mikrocefalie, megalencefalie,

fokální kortikální dysplázie (FCD, Focal Cortical Dysplasia), heterotopie, lizencefalie, polymikrogyrie či tzv. „cobblestone“ malformace. Mezi klinické projevy MCD patří epilepsie, vývojové opoždění a ID (Raybaud et al. 2011; Barkovich et al. 2012). Až 40 % farmakorezistentních epilepsií je způsobeno MCD (Frater et al. 2000; Pasquier et al. 2002; Baldassari et al. 2019).

Zatímco patogenní SNV v genech zapojených do normálního vývoje mozku jsou známou a popsanou příčinou rozvoje MCD, varianty typu CNV patří k méně často popsaným a spíše vzácným příčinám. Mezi známé patogenní SNV patří varianty v genech mTOR signální dráhy (Leventer et al. 2008), která působí jako centrální „kontrolor“ růstu a homeostázy. Příkladem jsou patogenní SNV v genech *WDR62*, *NDE1*, *TUBB3*, *TUBB5*, *TUBG1*, *DYNC1H1*, *KIF2A* způsobující mikrocefalie (Alkuraya et al. 2011; Breuss et al. 2012; Poirier et al. 2013; 2010; Yu et al. 2010) či geny *MTOR*, *DEPDC5*, *NPRL3* zodpovědné za FCD (Poduri et al. 2013; Sim et al. 2016). Dále geny pro tubulin a proteiny asociované s mikrotubuly (MAPs, Microtubulus Associated Proteins), které plní klíčovou roli během vývoje mozkové kůry, kdy ovlivňují a umožňují procesy jako je neurogenese, buněčná migrace či post-migrační organizace buněk (Romaniello et al. 2018) - *TUBA1A*, *LIS1*, *DCX* (Gleeson et al. 1998; Cardoso et al. 2003; Bahi-Buisson et al. 2014; Mutch et al. 2016).

Kauzální souvislost CNV s MCD byla popsána převážně u polymikrogyrií. Jednalo se o delece chromozomových oblastí 1p36.3 a 22q11.2 (Stutterd et al. 2014) a o delece 2p16.1p23.1, 4q21.21q22.1 a 6q26q27 (Dobyns et al. 2008). CNV byly popsány také u periventrikulární nodulární heterotopie - duplikace 5p15 (Sheen et al. 2003), delece 6p25 (Cellini et al. 2012), delece 7q11.23 (Ferland et al. 2006), monosomie 1p36 (Neal et al. 2006), delece 5q14.3q15 (Cardoso et al. 2009). Ve studii Kariminejad et al. 2011, zahrnující 169 pacientů s MCD, se podařilo nalézt 47 CNV u 38 pacientů. Velikost CNV se pohybovala mezi 150 kb – 10,2 Mb. Ve 12 případech se jednalo o CNV vzniklé *de novo*.

Kombinace metod aCGH a celoexomového sekvenování (WES, Whole Exome Sequencing), použitá ve studii Wiszniewski et al. 2018, zahrnující 54 dětských pacientů s MCD, vedla k detekci několika CNV, které se vyskytovaly jak izolovaně, tak i v kombinaci se SNV. U většiny CNV (delece 17p13.3; delece 15q11.1q11.2; kombinace delece 15q11.2q13.3 a delece 6q27) byla prokázána souvislost s MCD. Publikací o CNV jako kauzálních příčinách rozvoje MCD je však velmi omezené množství.

1.3 Varianty v počtu kopií (CNV)

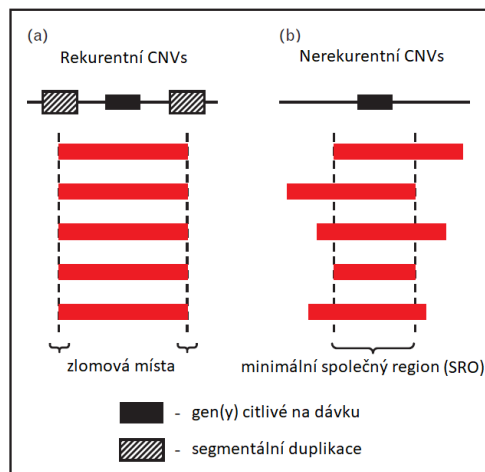
Jako CNV jsou označovány sekvence DNA s variabilním počtem kopií o minimální velikosti 1 kb (Feuk et al. 2006). Patří mezi běžné polymorfizmy detekované v genomu člověka, které zaujímají 4,8 – 9,5 % lidského genomu (Zarrei et al. 2015). CNV mají nejčastěji charakter prostých delecí a duplikací. Rozsah CNV je různý a může se pohybovat v rozmezí jednotek kilobází (kb) až mnoha megabází (Mb) (Loo et al. 2007). CNV mohou zasahovat jednotlivé geny, jejich části, celé genové oblasti či regulační elementy (Lee et al. 2010). CNV se v genomu mohou vyskytovat náhodně nebo vytvářet klastry, které jsou pak nejčastěji lokalizovány v tzv. *hot-spot* oblastech.

Rozsáhlejší celogenomové analýzy CNV byly umožněny díky vývoji nových diagnostických metod, především metody aCGH (Loo et al. 2007; Coe et al., 2012). Iafrate et al., 2004 detekovali ve své studii čítající 55 jedinců (39 zdravých kontrol a 16 jedinců s chromozomovou aberací) 255 lokusů se CNV napříč celým genomem. V průměru nesl každý jedinec ze studie 12,4 CNV a 10 % populace sdílelo stejné CNV (Iafrate et al. 2004). Další studii zaměřenou na CNV provedli Sebat et al., 2004. U 20 klinicky zdravých jedinců bylo detekováno celkem 221 CNV (~ 11 CNV/osoba). Průměrná velikost se pohybovala okolo 465 kb. Zhruba polovinu CNV představovaly rekurentní CNV (Sebat et al. 2004). Za první mapu CNV je považována studie provedená skupinou Redon et al., 2006. Studie byla založena na detekci CNV u 270 osob bez specifikace zdravotního stavu vybraných z evropské, asijské a africké populace. Pomocí metody aCGH bylo detekováno celkem 1447 CNV o celkové velikosti 360 Mb (zhruba 12 % genomu) (Redon et al. 2006). Počet detekovaných CNV u konkrétního jedince závisí na rozlišovací schopnosti použité aCGH platformy. U platformy s vyšším rozlišením lze očekávat zachyt většího počtu CNV a vyšetření konkrétního jedince pomocí několika různých platforem může vést k rozdílnému počtu detekovaných CNV.

1.3.1 Mechanismus vzniku CNV

Byly popsány tři základní mechanismy vzniku CNV: nealelická homologní rekombinace (NAHR, Non-Allelic Homologous Recombination), nehomologní spojování konců (NHEJ, Non-Homologous End Joining) a mechanismus blokování replikační vidlice a změny templátového vlákna (FoSTeS, Fork Styling and Template Switching) (Gu et al. 2008). V souvislosti s mechanismem vzniku lze CNV rozdělit na dvě skupiny – rekurentní a nereakurentní (*Obrázek 4*). Charakteristickými znaky rekurentních CNV jsou zpravidla stejná zlomová místa a rozsah (Lee et al. 2006). Nerekurentní CNV se naopak vyznačují

nejednotným rozsahem, a tedy i genovým obsahem a různými zlomovými místy. Rekurentní CNV vznikají nejčastěji mechanismem NAHR, nerekurentní CNV pak mechanismem NHEJ a FosTeS (Shaw et al. 2005).



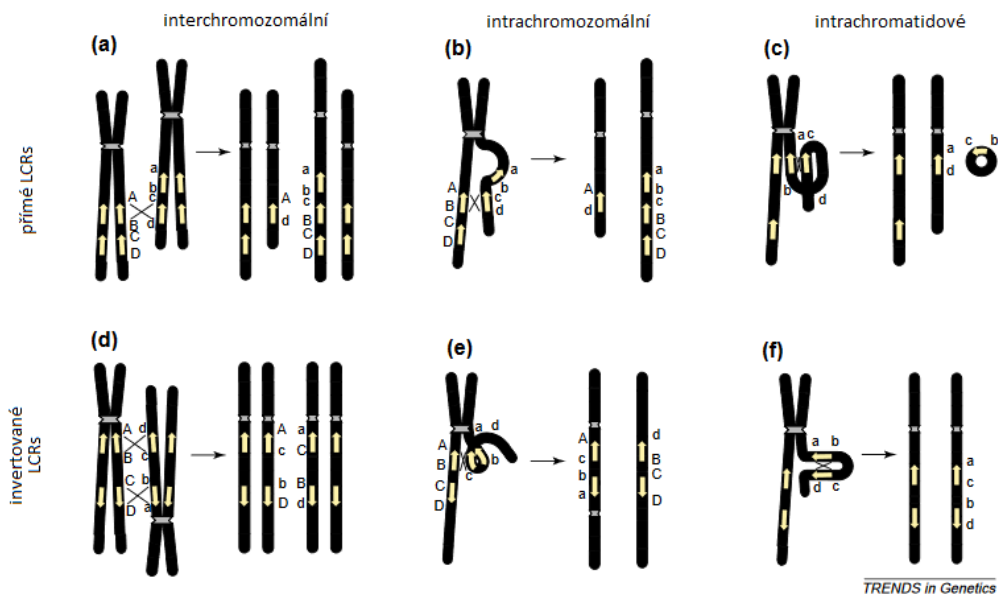
Obrázek 4: Rekurentní a nerekurentní CNV

SRO: smallest region of overlap, (převzato, přeloženo dle Mikhail, 2014)

Základním principem NAHR je nerovnoměrný crossing-over mezi repetitivními sekvencemi o malém počtu kopií tzv. LCRs (Low Copy Repeats). LCRs, také označované jako segmentální duplikace, jsou běžnou součástí genomu a zaujímají 5 – 10 % jeho celkové velikosti (Bailey et al. 2001). Jedná se o bloky specifických sekvencí DNA o velikosti 10 – 300 kb, s 95 – 97% sekvenční homologií (Stankiewicz et al. 2002; Bailey et al. 2006). Segmentální duplikace se mohou vyskytovat kdekoli v genomu (International Human Genome Sequencing Consortium 2001), jsou však popsány oblasti, kde je jejich výskyt vyšší. Jde především o pericentromerické a subtelomerické oblasti chromozomů (Eichler et al. 1996; Trask et al. 1998; Eichler et al. 1999). LCRs mohou vykazovat jednoduchou i složitou genetickou strukturu a obsahovat geny, pseudogeny, genové fragmenty, retrovirové sekvence i regulační sekvence (Lupski, 1998; Emanuel et al. 2001; Lee et al. 2006). K tomu, aby proběhla rekombinace mezi dvěma LCRs, je nutná nepřerušovaná homologie mezi těmito úseky o velikosti min. 134-232 pb tzv. MEPS (Minimal Efficient Processing Segment) (Waldman et al. 1988). Byla popsána korelace mezi velikostí LCRs a velikostí přestavby. Čím větší je LCRs, tím větší je vznikající přestavba (Lupski 1998).

NAHR může probíhat jak v zárodečných, meioticky se dělících buňkách, tak v somatických, mitoticky se dělících buňkách (Gu et al. 2008; Turner et al. 2008). Typ jednotlivých vznikajících přestaveb je ovlivněn velikostí, orientací i vzdáleností

jednotlivých LCRs (Lupski 1998; Lee et al. 2006). K NAHR může docházet mezi homologickými chromozomy (interchromozomově), v rámci jednoho chromozomu (intrachromozomově) či v rámci jedné chromatidy (intrachromatidově) (Obrázek 5) (Emanuel et al. 2001; Shaw et al. 2004; Gu et al., 2008). NAHR mezi LCRs orientovanými ve stejném směru vede ke vzniku delecí a duplikací. Jsou-li LCRs vůči sobě invertované, je výsledkem nejčastěji inverze nebo izodicentrický chromozom a acentrický fragment (Emanuel et al. 2001; Gu et al. 2008; Sasaki et al. 2010) (Obrázek 5).



Obrázek 5: Strukturní aberace vznikající v souvislosti s NAHR

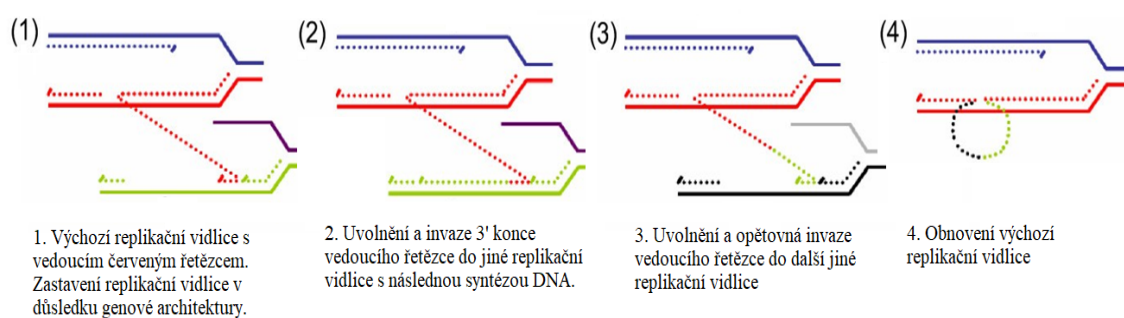
a) duplikace a delecce; b) delecce a duplikace c) normální chromatida, delecce a centrický fragment; d) inverze na obou chromatidách; e) izodicentrický chromozom a acentrický fragment; f) normální chromatida a inverze. NAHR: Nealeická homologní rekombinace, LCRs: Low copy repeats (upraveno dle Stankiewicz et al. 2002)

LCRs jsou spojovány především se vznikem rekurentních CNV, byla však také prokázána souvislost se vznikem nerekurentních CNV (Stankiewicz et al. 2003). Kromě LCRs mohou NAHR potencovat také další specifické sekvence DNA např. *Alu* sekvence (Calabretta et al. 1982; Bailey et al. 2002; Babcock et al. 2003).

Dalším popsaným mechanismem vedoucím ke vzniku nerekurentních duplikací a delecí je NHEJ (Gu et al. 2008). NHEJ patří mezi reparační mechanismy DNA a uplatňuje se při opravě dvouchromatidových zlomů (Pfeiffer et al. 1994; Kanaar et al. 1998). Jde o komplexní enzymatický proces, který lze popsat čtyřmi na sebe navazujícími kroky: 1) rozeznání dvouchromatidového zlomu, 2) přemostění konců, 3) modifikace konců zlomů a 4) ligace konců (Weteringset van Gent, 2004). Od NAHR se NHEJ odlišuje tím, že v místě

rekombinace není nutná homologie mezi dvěma úseky a po procesu NHEJ zůstává „jizva“ v podobě delece, ev. inserce několika nukleotidů. Tyto sekvence nevykazují žádnou homologii a jejich původ je dle studií neznámý (Nobile et al. 2002; Toffolatti et al. 2002; Lieber 2008).

Proces NAHR a NHEJ nevysvětluje vznik všech chromozomových přestaveb. Dalším mechanismem je FoSTeS. Uplatňuje se při vzniku komplexních a nerecurrentních přestaveb. Základním principem mechanismu (*Obrázek 6*) je zastavení replikační vidlice v důsledku přítomnosti sekundární struktury DNA. Následuje odpojení vedoucího řetězce z templátu a přesun 3' konce do místa jiné replikační vidlice. Přesun vyžaduje určitou míru mikrohomologie (Lee et al. 2007). Výsledkem působení jsou jak delece, tak duplikace (Gu et al. 2008).



Obrázek 6: Princip mechanismus FoSTeS

FoSTeS: Fork Styling and Template Switching, DNA: deoxyribonukleová kyselina (převzato z Lee et al, 2007, upraveno)

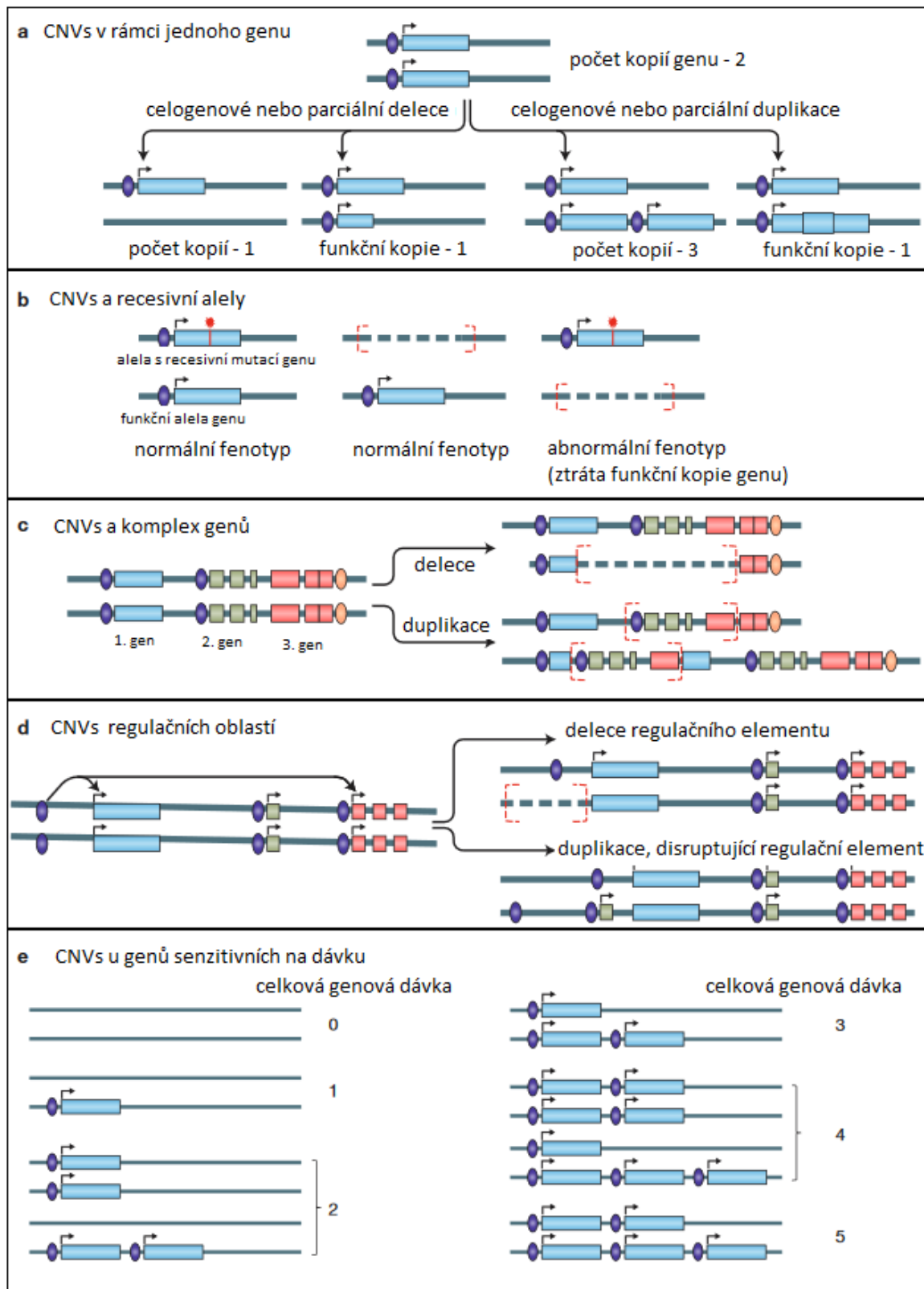
1.3.2 CNV jako příčina onemocnění

CNV představují jeden z mechanismů evolučního vývoje. Významně ovlivňují variabilitu genomu a podílejí se na rozvoji řady onemocnění (Iafrate et al., 2004; Sebat et al., 2004; Lee et al. 2010). Bylo popsáno pět mechanismů, kterými mohou CNV ovlivňovat strukturu genomu a vést k rozvoji onemocnění: změna počtu kopií jednoho genu v souvislosti s celogenovou či parciální duplikací/deleci (*Obrázek 7a*), odmaskování recesivní mutace vlivem delece (*Obrázek 7b*), změna počtu/disrupce funkčních kopií více genů (*Obrázek 7c*), duplikace/delece regulačních oblastí (*Obrázek 7d*) a změna počtu kopií u genů citlivých na dávku (*Obrázek 7e*).

Onemocnění způsobená CNV mohou mít recesivní i dominantní charakter. Klinický význam a patogenita CNV je často korelována s velikostí CNV a počtem zasažených genů. Rozsahově větší CNV jsou častěji detekovány u jedinců s různými onemocněními, na rozdíl od kontrolní zdravé skupiny (Buysse et al. 2009; Cooper et al. 2011) (*Obrázek 8*). Toto tvrzení však neplatí bez výjimky. I CNV menšího rozsahu mohou mít významný klinický dopad, zatímco velké CNV mohou být benigní.

Kromě stavu, kdy jsou CNV přímou příčinou rozvoje patofyziologického procesu, mohou CNV plnit funkci tzv. modifikujících faktorů, které k výslednému fenotypu přispívají určitou měrou, ale samy o sobě rozvoj onemocnění nevyvolávají (Merikangas et al. 2009). Hranice mezi benigní a patogenní variantou se však často stírá, jejich patogenita může záviset například na zygotitě. Monoalelické CNV postihující některé kritické regiony k onemocnění nevedou, ovšem bialelické CNV (případně hemizygotní u mužů) onemocnění způsobí (Mikhail 2014).

Fenotypové projevy duplikací a delecí v rámci určité chromozomové oblasti (reciproké duplikace/delece) lze rozdělit do tří skupin (Deshpande et al. 2018). První skupinu tvoří duplikace a delece s opačným fenotypovým účinkem. Příkladem je delece oblasti 1q21.1 způsobující u 25-50 % jedinců mikrocefalii, zatímco duplikace vedou u stejného procenta jedinců (25 - 50 %) k rozvoji makrocefalie (Mefford et al. 2008; Bernier et al. 2016). Druhou skupinu tvoří případy, kdy je delece i duplikace zodpovědná za rozvoj stejného fenotypu, jak je tomu například u duplikace a delece chromozomové oblasti 15q13.3 vedoucí k rozvoji ID, PAS, ADHD a vývojovému opoždění. Poslední jsou případy, kdy je delece zodpovědná za rozvoj určitého fenotypového znaku, zatímco duplikace tento znak nevyvolává. Jako příklad slouží delece 22q11.2 projevující se imunodeficitem, zatímco u duplikací tento projev nebyl pozorován (Sullivan 2004).



Obrázek 7: CNV a mechanismus působení v souvislosti s rozvojem onemocnění
 (převzato, přeloženo a upraveno dle Lee et al., 2010)

1.3.3 Klasifikace CNV

Ke zhodnocení klinické relevance CNV by měl být používán jednotný klasifikační systém vycházející z mezinárodně uznávaných doporučení („guidelines“). CNV jsou dle doporučení „*Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)*“ (Riggs et al. 2020) děleny do 5 tříd: třída 1 - benigní, třída 2 - pravděpodobně benigní, třída 3 - nejasná, třída 4 - pravděpodobně patogenní, třída 5 - patogenní. Při dělení do tříd jsou zohledňována různá kritéria (počet zasažených genů, dědičnost, výskyt v databázích atd.).

Jako patogenní jsou hodnoceny varianty, u nichž byla prokázána příčinná souvislost s onemocněním – CNV jasně spojované s onemocněním, CNV zasahující na dávku citlivé geny a CNV v oblastech, které jsou definovány jako na dávku citlivé regiony. U pravděpodobně patogenních variant existuje vysoká pravděpodobnost negativního vlivu na fenotyp, ale zatím neexistují dostatečné důkazy, prokazující jednoznačnou příčinnou souvislost těchto variant s onemocněním. Stejně tak je tomu u pravděpodobně benigních variant s tím rozdílem, že tyto varianty nejsou spojovány s onemocněním, ale tento fakt není jasně podložen. Jako benigní jsou dle definice označovány CNV, které se ve zdravé populaci vyskytují s prevalencí $> 1\%$. Nejrozsáhlejší a nejkomplicovanější je pak skupina nejasných variant označovaných zkratkou VUS (Varianty nejasného klinického významu, Variant of Unknown/Uncertain Significance). Jedná se o CNV, které byly popsány v populaci, avšak ne s prevalencí $> 1\%$, aby splňovaly kritéria pro běžný polymorfismus. Jedná se často o CNV zasahující funkčně „neznámé“ geny, u nichž není známá ani jejich citlivost na dávku (Riggs et al. 2020).

Při studiu patogenity CNV se uplatňují dva přístupy označované běžně anglickými názvy – „*phenotype-first*“ a „*genotype-first*“. V prvním případě je selektována skupina jedinců se stejným fenotypovým znakem, u nichž se následně pátrá po CNV, které nesou všichni tito jedinci. U druhého přístupu je nejprve stanoven genotyp a až zpětně jsou u jedinců, kteří nesou stejné CNV, vyhodnoceny jednotlivé fenotypové znaky s cílem odhalit fenotypový překryv u těchto pacientů (Lee et al. 2010).

Hodnocení klinické signifikance nalezených CNV je často komplikováno neúplnou penetrancí a variabilní expresivitou (Lee et al. 2010). Variabilní expresivita udává míru vyjádření daného fenotypového znaku. Penetrance je udávána v procentech a říká, u jakého podílu jedinců s danou CNV se projeví klinické znaky onemocnění. Rozlišujeme penetranci úplnou a neúplnou (Cooper et al. 2013). Zvláštním typem je tzv. pseudo-nekompletní

penetrance. Jedná se o stav, kdy daný fenotypový znak není přítomný v době vyšetření, ale rozvine se později v životě, neboť některá geneticky podmíněná onemocnění jsou tzv. „*late onset*“, s nástupem např. v adolescenci i později (Shawky 2014). Nejvíce se neúplná penetrance projevuje u autozomálně dominantních (AD) onemocnění (Cooper et al. 2013). Je ovlivněna genetickými i negenetickými faktory (např. věk, pohlaví). U duplikací 16p13.11 byla například prokázána zvýšená penetrance neurovývojových poruch (PAS, ADHD, ID, schizofrenie) u jedinců mužského pohlaví (Tropeano et al. 2013).

1.3.4 CNV u NVO

CNV jsou jednou ze známých příčin rozvoje NVO. Výskyt kauzálních CNV byl prokázán u pacientů s PAS, schizofrenií, ID i epilepsií (Kaminsky et al. 2011; Sebat et al. 2007; Walsh et al. 2008). Nejvíce kauzálních CNV je nalézáno u jedinců se závažnějším fenotypem, často zahrnujícím ID a vývojové opoždění a také u jedinců s NVO a přidruženými vrozenými vývojovými vadami (VVV) a faciální dysmorfii. U jedinců s epilepsií, PAS a schizofrenií jsou CNV detekovány také, ale v menší míře. U NVO typu dyslexie či u Tourettova sy. byl výskyt kauzálních CNV nejnižší (Coe et al. 2012). U kandidátních CNV pro NVO bylo vyzorováno, že CNV nejsou často specifické pouze pro jeden fenotypový znak, ale vedou spíše k rozvoji několika rozdílných NVO, jako je například ID, PAS a schizofrenie. Tato koincidence naznačuje společnou biologickou vývojovou cestu, jejíž narušení vede k rozvoji klinicky odlišných NVO. Jaký typ NVO se rozvine, je dle autorů dáno spíše působením dalších aditivních genetických, environmentálních a epigenetických faktorů (Guilmatre et al. 2009).

1.3.5 CNV u epilepsií

Řada studií potvrdila roli CNV v etiologii epilepsií. Zpočátku se jednalo o izolované případy výskytu CNV, později vznikaly ucelenější studie na větších kohortách pacientů. V roce 2007 publikovali Kim et al. soubor 60 pacientů s různými typy epilepsií (GGE, febrilní křeče, fokální epilepsie), u nichž detekovali CNV v různých chromozomových oblastech (Kim et al. 2007). V letech 2008-2010 vyšla řada studií odhalující nové CNV. Sharp et al. 2008 publikovali mikrodeleci oblasti 15q13.3 u pacientů s komplexním fenotypem zahrnujícím epilepsii a ID. Andrieux et al. 2008 popsali tandemovou duplikaci oblasti 6p21.2p22.1 zasahující geny *GABBR1*, *BRD2* a *GRM4*, čímž rozšířili poznatky o vlivu CNV na rozvoj epilepsií také o duplikace. V roce 2009 vyšla publikace potvrzující spojitost delece oblasti 15q13.3 s rozvojem GGE (Helbig et al. 2009). Rozsáhlejší studii

publikovali Mefford et al. 2010, kdy v kohortě 517 pacientů s různým typem epilepsie detekovali klinicky významné CNV u 46 (8,9 %) z nich. Detekované CNV se pohybovaly v rozmezí 13 kb – 15,9 Mb. Byly detekovány nejen delece a duplikace rekurentního charakteru v „hot-spot“ oblastech pro epilepsie (delece 15q11.2, 16p12.1, 16p13.11; duplikace 16p11.2), ale také v dalších oblastech genomu. Postupně pak byly publikovány další kauzální CNV (Tabulka 3) (Kovel et al. 2010; Dimassi et al. 2014; Heron et al. 2010; Kim et al. 2016; Shinawi et al. 2010).

Tabulka 3: Příklady CNV spojovaných s epilepsiemi

ID: intelektová nedostatečnost; PAS: porucha autistického spektra; GGE: genetická generalizovaná epilepsie

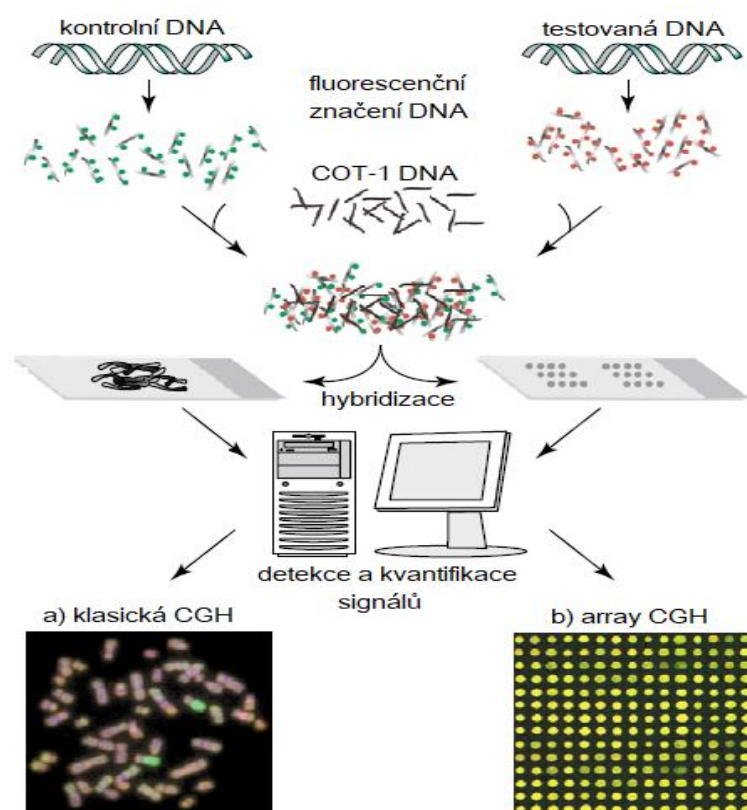
Aberace	Oblast	Epilepsie	Zdroj
Duplikace	2q24.3	Familiární neonatální epilepsie s ID	Heron et al., 2010
Duplikace/ Delece	16p11.2	Epilepsie s PAS, ID	Shinawi et al., 2010
Delece	15q11.2	GGE	de Kovel et al., 2010
Delece	16p13.2	Rolandická epilepsie	Dimassi et al., 2014
Delece	22q11.2	Generalizované tonicko-klonické křeče, myoklonické křeče, fokální klonické křeče	Kim et al., 2016

Olson et al. 2014 ve své studii rozdělili detekované CNV do několika skupin. První skupinu představovaly CNV detekované v oblastech známých mikrodelečních a mikroduplikačních sy., u kterých je epilepsie jedním z hlavních fenotypových projevů (Wolfův-Hirschhornův sy., Angelmanův sy., Phelanové-McDermidové sy., Mowatův-Wilsonův sy., *MECP2* mikroduplikační sy., sy. mikrodelece 1p36 atd.). Druhou skupinu představovaly CNV v tzv. „hot-spot“ oblastech, tedy oblastech, kde byly ve zvýšené míře detekovány CNV jasně kauzální pro rozvoj epilepsií (např. 1q21.1; 15q11.2; 15q11q13, 15q13.3; 16p11.2; 16p13.11;). Poslední skupinu tvořily CNV, zasahující pro epilepsii kauzální geny (např. *CHRNA7*, *GABRA1*, *PRRT2*). Kromě dobře popsanych rekurentních CNV byly u pacientů s epilepsií detekovány také nerekurentní CNV (Mefford et al. 2010; Bartnik et al. 2012; Mefford 2014). Některé studie se věnovaly záchytu CNV u pacientů s epilepsií kombinovanou s ID (Striano 2012; Mullen et al. 2013; Borlot et al. 2017). Bylo prokázáno, že oproti skupině pacientů s izolovanou formou epilepsie (3 %) je záchytnost u epilepsií v kombinaci s ID vyšší (10 %) a detekované CNV jsou rozsahově větší a genově bohatší (Mullen et al. 2013).

Celkový záchyt kauzálních CNV pomocí metody aCGH u pacientů s epilepsií se v publikovaných studiích pohybuje v rozmezí 2-16 % (Striano 2012; Mullen et al. 2013; Galizia et al. 2012; Olson et al. 2014; Mefford 2014; Addis et al. 2016).

1.3.6 Metody detekce CNV

Počátek detekce chromozomových aberací lze datovat do roku 1960 v souvislosti s rozvojem metod G-pruhování. Stanovení karyotypu patří dodnes mezi základní metody klasické cytogenetiky, avšak rozlišovací schopnost této metody nebyla dostačující pro detekci submikroskopických CNV což vedlo k vývoji nových metod, jako jsou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH, Fluorescence *In Situ* Hybridization) a dále komparativní genomová hybridizace (CGH), která byla poprvé představena v práci Kallioniemi et al., 1992. Základním principem metody je hybridizace dvou odlišných, nejčastěji fluorescenčně značených DNA, k metafázním chromozomům fixovaným na podložním skle (Obrázek 8) (Kallioniemi et al. 1992).



Obrázek 8: Základní princip metody komparativní genomové hybridizace

Levá část obrázku představuje metodu klasické komparativní genomové hybridizace, s využitím chromozomů fixovaných na podložní sklo. Pravá část představuje moderní array CGH s využitím čipu se syntetizovanými próbami. COT-1-DNA: lidská placentární DNA sloužící k blokování repetitivních sekvencí. CGH: komparativní genomová hybridizace (převzato, přeloženo a upraveno dle Mantripragada et al., 2004)

1.3.7 Komparativní genomová hybridizace na čípech

Nízká rozlišovací schopnost a nutnost získání metafázních chromozomů vedly k nahrazení chromozomů jednotlivými sekvencemi (klony) DNA. Metoda byla představena jako aCGH (Solinas-Toldo et al. 1997) (Obrázek 8). Stejně jako v případě klasické CGH jsou dvě celogenomové DNA (referenční a analyzovaná) fluorescenčně označeny odlišnými fluorochromy, nejčastěji pomocí cyaninu 3 (Cy3) a 5 (Cy5). Obě DNA jsou poté smíchány a je přidána *COT-1* DNA, umožňující blokování repetitivních sekvencí v genomu (Kallioniemi et al. 1992). Následuje hybridizace vzorků k próbám fixovaným čipu. Po ukončení hybridizace je provedeno odmytí čipu a nasnímání intenzit fluorescenčních signálů jednotlivých prób při vlnové délce 635 nm (Cy3) a 532 nm (Cy5). Poměr intenzit Cy3/Cy5 je za normálních okolností roven 1,0. Vychýlení poměru značí přítomnost delece či duplikace/amplifikace ve vyšetřovaném vzorku (Pinto et al. 2011).

Jako první byly používány BAC čipy (Bacterial Artificial Chromosome), jejichž diagnostické próby byly tvořeny klony DNA získanými pomocí bakteriálních vektorů (Solinas-Toldo et al. 1997; Pinkel et al. 1998). Čipy se skládaly z 3500 – 25 000 prób, tvořených úseky DNA o velikosti 150-200 kb. Rozlišovací schopnost těchto čipů se pohybovala okolo 1 Mb (Snijders et al. 2001; Ishkanian et al. 2004; Carter 2007). Později byly vytvořeny čipy využívající jako próby komplementární DNA. (Pollack et al. 1999) či pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR, Polymerase Chain Reaction) generované sekvence (Snijders et al. 2001; Veltman et al. 2002; Fiegler et al. 2003). Tyto čipy se vyznačovaly vyšší rozlišovací schopností, lepším pokrytím genomu, ale nevýhodu představovalo nízké odlišení intenzity signálu próby od intenzity pozadí (Carter 2007). Milníkem v metodice aCGH byl vývoj čipů s próbami tvořenými oligonukleotidy (Brennan et al. 2004; Carvalho et al. 2004). K syntéze čipů se využívají oligonukleotidy od délce 25–70 bp. Množství prób na oligo čípech se pohybuje v rozmezí od desítitisíců až po 2,1 milionu (Park 2008). Čipy poskytují lepší rozlišení, vyšší míru přesnosti a reprodukovatelnosti než jiné cytogenetické metody. Nevýhodou zůstává horší odlišení intenzity signálů pozadí a prób (Brennan et al. 2004; Carvalho et al. 2004).

Rychlost, robustnost, senzitivita, specifická, možnost testovat tisíce oblastí genomu v jednom kroku a, v porovnání s dalšími cytogenetickými metodami, vyšší rozlišovací schopnost patří mezi hlavní výhody aCGH. Všechny tyto parametry jsou závislé na typu použitého čipu a souvisí s denzitou, kvalitou a délkou prób (Miller et al. 2010). Obecně platí, že delší próby vykazují vyšší specifitu, avšak na úkor snížené rozlišovací schopnosti (Park 2008). Vyšší denzita prób na platformě umožňuje detekci menších aberací. Senzitivita a

specifická metoda je také závislá na nastavení analytického softwaru využívaného k analýze dat. Jedná se především o určení vhodného detekčního limitu. Vyšší detekční limit potlačuje falešnou pozitivitu, ale ovlivňuje výsledek z hlediska výskytu vyšší falešné negativitu (Vermeesch et al. 2012). Jako vhodný detekční limit je udávána hodnota ± 3 směrodatné odchylky (SD, standard deviation) intenzity detekovaného signálu próby (Schwaenen et al. 2004; Shaw-Smith et al. 2004). Limitace spočívají především v neschopnosti metody detekovat balancované přestavby, bodové mutace a aberace menší, než je rozlišovací schopnost použité platformy.

Větší pozornosti se CNV i metodě aCGH dostalo díky publikaci dvou studií zaměřených na detekci CNV v genomu člověka (Iafate et al. 2004; Sebat et al. 2004). Následně byly publikovány další studie, odhalující nové CNV spojované s různými onemocněními. Záchytnost kauzálních CNV ve skupině pacientů s ID a vývojovým opožděním se pohybuje mezi 15 – 28 % (Cooper et al., 2011; Bartnik et al., 2012; Battaglia et al., 2013; D'Arrigo et al., 2016; Fan et al., 2018; Lee et al., 2018; Hu et al., 2019; Miller et al., 2010). U dětí s PAS se dle nové studie záchytnost pohybuje okolo 11 % (Chehbani et al., 2022). U pacientů s epilepsií kombinovanou s ID je pak publikována záchytnost 8,7 % (Peycheva et al. 2018). Celkově se záchyt kauzálních CNV napříč studiemi a onemocněními liší. Výsledný záchyt je ovlivněn použitím různých platforem a závisí i na vstupních kritériích pacientů do souboru.

2 Cíle práce

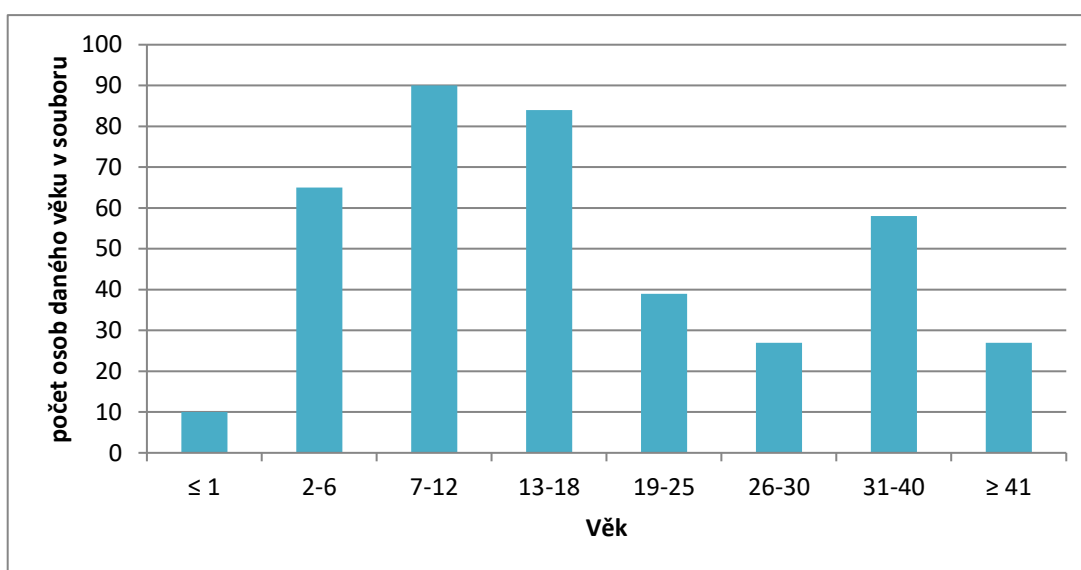
Předkládaná práce se zabývá detekcí CNV u pacientů s NVO zahrnujícími epilepsii a zhodnocením klinického významu zachycených aberací. Hlavním cílem práce bylo pomocí metody aCGH detekovat nové unikátní CNV, případně jednotlivé geny potenciálně kauzální pro rozvoj NVO, především pak epilepsií. Dílčími cíli práce bylo:

- 1) U CNV, jejichž příčinná souvislost je jasně prokázána, provést precizní korelaci fenotyp-genotyp, která by případně mohla vést k upřesnění fenotypu spojeného s danou CNV.
- 2) U nově detekovaných CNV provést analýzu genového obsahu těchto variant s cílem vytipovat možné kauzální geny pro epilepsie.
- 3) Ověřit původ detekovaných variant (tedy zda je varianta *de novo* nebo zděděná a u zděděných zhodnotit fenotyp rodiče nesoucího danou CNV) s cílem přispět k poznatkům o penetranci CNV.
- 4) Porovnat výsledky projektu s dalšími dostupnými zahraničními studii s cílem potvrdit, zda je situace obdobná i v české populaci.
- 5) Porovnat záchytnost kauzálních CNV v rámci čtyř vyšetřovaných skupin pacientů s cílem upřesnit indikační kritéria k vyšetření metodou aCGH u pacientů s epilepsií.
- 6) Zavedení vlastní čipové platformy, zaměřené na exonové pokrytí vytipovaných genů, které hrají roli v etiologii epilepsií s cílem zvýšit záchyt kauzálních CNV.
- 7) Ve spolupráci s Klinikou dětské neurologie (KDN) 2. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy (2. LF UK) a Fakultní nemocnice Motol (FNM) a Neurologickou klinikou 2. LF UK a FNM optimalizovat diagnostický algoritmus pro objasňování genetických příčin NVO, zejména epilepsií.

3 Materiál a metody

3.1 Kohorta pacientů

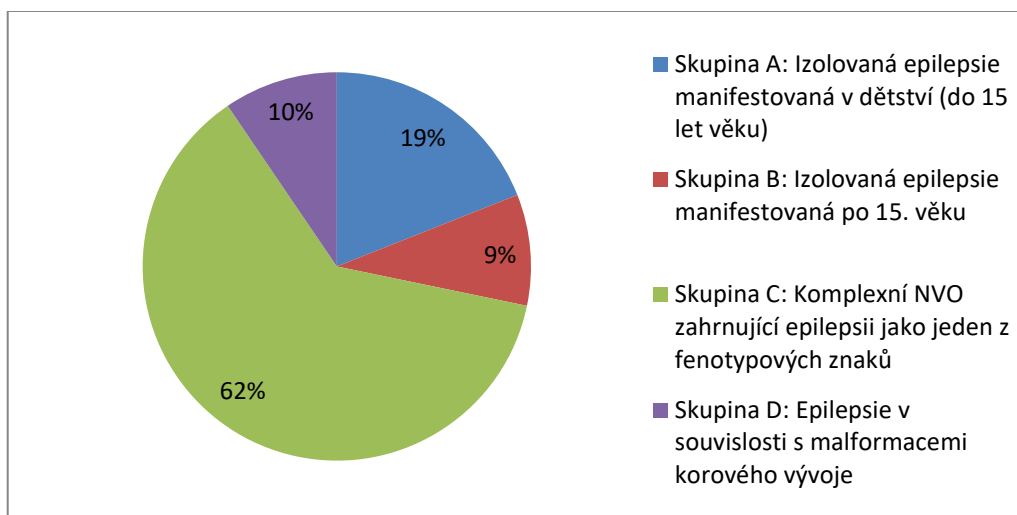
Sběr pacientů do studie byl zahájen v roce 2016, vlastní studie probíhala v letech 2017–2021. Vyšetřovaný soubor čítá 400 jedinců – 207 žen (52 %) a 193 mužů (48 %). Do studie byli zařazeni pacienti všech věkových kategorií, průměrný věk pacientů v souboru byl 18 let, medián 14 let. Věkové rozložení pacientů v souboru v době vyšetření souboru je zobrazeno v *Grafu 1*.



Graf 1: Věkové rozložení souboru pacientů v době vyšetření

Primárním kritériem pro zařazení do studie byl výskyt epilepsie, a to jak v izolované formě, tak v kombinaci s dalšími NVO, VVV či faciální dysmorfii. Pacienti byli na základě klinického obrazu rozděleni do čtyř skupin (*Graf 2*). Ve skupině A byly zahrnuti jedinci, u nichž se epilepsie manifestovala do 15 let věku a byla po klinickém zhodnocení uzavřena jako izolovaná (tzn. bez komorbidit typu přidružených závažnějších NVO, VVV či významné faciální dysmorfie). Skupinu B tvořili jedinci, splňující stejná kritéria jako skupina A s jediným rozdílem, a to věkem manifestace epilepsie po 15. roce života. V nejpočetnější skupině C byli zařazeni pacienti s komplexním NVO, zahrnujícím kromě epilepsie také komorbidity ze spektra opoždění psychomotorického vývoje (PMV), ID, poruch učení, PAS, ADHD, VVV a výrazné/specifické faciální dysmorfie. Do skupiny D byli zařazeni jedinci s jednoznačně prokázanou MCD zjištěnou pomocí magnetické

rezonance (MRI, Magnetic Resonance Imaging) CNS v patřičném protokolu. Část pacientů v této skupině vykazovala pouze izolovanou epilepsii, u části byly přítomny komorbidity či dysmorfické rysy a věk manifestace těchto pacientů byl rovněž různý.



Graf 2: Procentuální zastoupení pacientů dle definovaných skupin (A-D) ve vyšetřované kohortě

Celkem vyšetřeno 400 jedinců. Skupina A: 76 jedinců, skupina B: 37 jedinců, skupina C: 249 jedinců, skupina D: 38 jedinců.

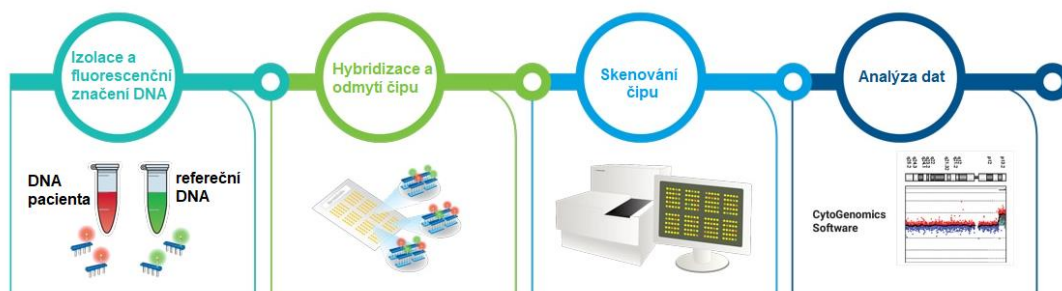
Výběr pacientů zařazených do studie byl proveden klinickým genetikem z Oddělení klinické genetiky Ústavu biologie a lékařské genetiky (ÚBLG) 2. LF UK a FNM dle definovaných pravidel souboru ve spolupráci s lékaři z KDN 2. LF UK a FNM a z Neurologické kliniky 2. LF UK a FNM, kteří mj. hodnotili typ epilepsie u konkrétních pacientů.

V souvislosti s anonymizací souboru byl všem jedincům v souboru pro daný kalendářní rok přidělen unikátní identifikátor. Počty jedinců vyšetřených v jednotlivých letech a rozpětí identifikátorů je uvedeno dále:

- rok 2016: 35 jedinců: E16001-E16035
- rok 2017: 80 jedinců: E17001-E17080
- rok 2018: 100 jedinců: E18001-E18100
- rok 2019: 79 jedinců: E19001-E19079
- rok 2020: 43 jedinců: E20001-E20043
- rok 2021: 63 jedinců: E21001-E21063

3.2 Celogenomová analýza pomocí aCGH

Celogenomová analýza pomocí aCGH byla provedena nejen u všech 400 pacientů, ale ve vybraných případech také u dalších členů rodiny, a to za účelem určení původu varianty (tzv. segregační analýza). K analýze byla použita DNA izolovaná z leukocytů periferní krve. Při vyšetření bylo postupováno dle originálního návodu výrobce použitých platform. Zjednodušený a zkrácený postup je uveden na *Obrázku 9*.



Obrázek 9: Základní postup metody aCGH

Zpracování vzorku metodou aCGH zahrnuje čtyři hlavní kroky. Prvním krokem je naznačení DNA pacienta a referenční DNA pomocí fluorescenčně značených nukleotidů dUTPs (deoxyuridin trifosfát). Takto připravená DNA (pacient + reference) je smíchána a s dalšími reagensy přenesena na čip, kde dochází k hybridizaci DNA na diagnostické próby. Po ukončení hybridizace je čip odmyt za daných stringentních podmínek, které vedou k odmytí nespécifických signálů. Následně je čip skenován. Při skenování dochází k zaznamenání fluorescence vybuzeané působením laserů. Následně jsou hrubá data ve formátu .tiff nahrána do softwaru, pomocí kterého jsou zpracována a analyzována. (Převzato a upraveno z <https://www.agilent.com/en/promotions/cgh-fish-array>)

K porovnání DNA profilu pacientů byla použita komerčně dostupná referenční DNA (Megapool reference DNA male/female, Kreatech Diagnostics, Nizozemsko). Obě genomové DNA (pacient/reference) byly fluorescenčně označeny pomocí značící soupravy SureTaq DNA labeling kit (Agilent Technologies, USA) a následně hybridizovány na vybranou platformu, a to SurePrint G3 CGH ISCA v2 4x180K nebo SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K (Agilent Technologies, USA) (ISCA, International Standards for Cytogenomic Arrays). Po ukončení hybridizace byly čipy naskenovány pomocí DNA microarray skeneru (Agilent Technologies, USA).

Platforma SurePrint G3 CGH ISCA v2 4x180K obsahuje ~ 180 000 prób o délce 60 kb. Zhruba 21 445 prób se nachází v ISCA regionech (oblasti genomu, u kterých jsou popsána CNV riziková pro rozvoj onemocnění) a 125 061 prób vytváří kostru neboli „backbone“ čipu (próby pokrývající rovnoměrně celý genom, bez ohledu na geny a genové oblasti). Medián vzdálenosti mezi jednotlivými próbami je 25 kb. Platforma

SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K obsahuje ~ 60 000 prób o délce 60 kb. Celkem 18 851 prób se nachází v ISCA regionech. Medián vzdálenosti mezi jednotlivými próbami je 60 kb. Rozlišovací schopnost byla na základě validace při zavádění metody do běžného provozu nastavena na 100 kb pro čip 4x180K a 200 kb pro čip 8x60K. Specifikace čipů a porovnání čipů je uvedeno v *Tabulce 4*.

Tabulka 4: Porovnání a specifikace použitých aCGH platforem

OMIM „morbid geny“: geny spojené s onemocněním, kb: kilobáze, OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man, ISCA: International Standards for Cytogenomic Arrays

Typ čipu	Počet prób	Medián vzdálenosti prób (kb)	ISCA próby	Počet pokrytých genů	Pokryté OMIM „morbid geny“	Rozlišovací schopnost udaná výrobcem (kb)
SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K	60 000	60	18851	1219	455	120
SurePrint G3 CGH ISCA v2 4x180K	180 000	25	21445	3634	950	50

3.2.1 CNV „call“ a bioinformatická analýza

Hrubá data, představující nasnímané intenzity fluorescenčních signálů pro jednotlivé próby, ve formátu *.tiff* byla nahrána a zpracována pomocí softwaru CytoGenomics (Agilent Technologies, USA). Software na základě nastavených parametrů provede tzv. „*CNV call*“, neboli vytvoření seznamu detekovaných CNV. Primárním parametrem, který vede k označení varianty, je přítomnost minimálně tří vedle sebe se nacházejících prób, jejichž hodnota *log2ratio* je - 0,3 v případě delecí a +0,3 v případě duplikací. Další sledovanou hodnotou je *p-value* – vyjádřená jako X^{-n} . Čím je hodnota *n* vyšší, tím je přítomnost detekované CNV pravděpodobnější. Významnou roli v detekci CNV hraje také kvalita získaných dat. Důležitým parametrem je hodnota DLRSD (Derivate LogRatio Standard Deviation), která vyjadřuje odhad šumu ve výsledku analýzy, který je vypočítán jako rozdíl poměrů *log2ratio* mezi po sobě následujícími sondami dělený $\sqrt{2}$. Tento parametr by měl nabývat hodnot <0,2. Čím je hodnota vyšší, tím je kvalita získaných dat horší.

Všechna detekovaná CNV byla následně klasifikována do pěti základních skupin – benigní (třída 1), pravděpodobně benigní (třída 2), nejasné (třída 3), pravděpodobně patogenní (třída 4) a patogenní (třída 5), dle mezinárodně uznávaného doporučení „*Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy number*

variantns: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)“ (Riggs et al. 2020). Zvláštní skupinu pak tvořily varianty označované jako HFLP (High Frequency, Low Penetrant), tedy varianty s vysokou četností v populaci a nízkou penetrancí. Dle Maya et al. 2020 patří do této skupiny CNV s penetrancí < 10 % a frekvencí u klinicky „zdravé“ populace > 0,1 %.

Při určování klinické signifikance bylo vycházeno z následujících parametrů: velikost CNV, typ CNV, počet a funkce zasažených genů, delece/duplikace v oblastech známých mikrolečních/mikroduplikačních syndromů a výskyt CNV v databázích. Zjednodušený algoritmus klasifikace variant, vycházející z výše zmíněného mezinárodně uznávaného doporučení je znázorněn na *Obrázku 10*. K určení počtu zasažených genů byly použity nástroje: UCSC vyhledávač (University of California Santa Cruz, <https://genome.ucsc.edu/>) a GeneScout (<https://genescout.omim.org/>). Informace o jednotlivých zasažených genech a jejich funkci byly získány z databáze OMIM (<https://omim.org/>) a databáze GeneCards (<https://www.genecards.org>). Koordináty detekovaných CNV byly v první řadě zadány do DGV (Database of Genomic Variants, <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>), ve které jsou anotovány benigní varianty detekované u klinicky „zdravých“ jedinců. DGV umožnila v rámci studie vyselektovat běžné benigní varianty. Další použitou databází byl DECIPHER (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources) (<https://www.deciphergenomics.org/>), vycházející z dat poskytovaných jednotlivými pracovišti po celém světě. V databázi jsou dohledatelné varianty s jejich klinickou klasifikací a dalšími údaji o jejím nositeli, jako je dědičnost a fenotyp. Poslední používanou databází byl ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>). ClinVar, stejně jako DECIPHER, shromažďuje CNV detekované u jedinců s různými odchylkami ve fenotypu. Po filtraci benigních a pravděpodobně benigních CNV (třída 1 a 2) byly zbývající detekované CNV (třída 3, 4 a 5) porovnávány s dalšími zdroji (databáze a publikace).



Obrázek 10: Používaný, zjednodušený algoritmus hodnocení klinické signifikance detekovaných CNV
DGV: Database of Genomics Variants

3.3 Vyšetření segregace detekovaných variant

U jedinců s prokázanou CNV třídy 3-5 či HFLP, pokud to bylo možné, byla pro určení původu aberace a jejího klinického významu provedena segregáční analýza. K segregáční analýze byla primárně použita metoda aCGH, ve třech případech (E17070; E18054; E19079) metoda MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification) za použití komerčně dostupných kitů od firmy MRC Holland (Nizozemsko) – Salsa MLPA kit P343-C2 (Autismus); Salsa MLPA kit P081/P082 NF1 probemix; Salsa MLPA kit P297-B2 (Mikrodeleční syndromy 2). Vyšetření pomocí metody MLPA bylo provedeno na Oddělení molekulární genetiky ÚBLG 2. LF UK a FNM. U sedmi rodin byla k upřesnění nálezu a vyšetření segregace použita molekulárně cytogenetická metoda FISH. Seznam použitých sond je uveden v *Tabulce 5*.

Tabulka 5: Seznam FISH sond použitých u jednotlivých případů

Proband	Nález z aCGH	FISH sonda
E16008	Duplikace 22q11.21	Aquarius microdeletion probe DiGeorge and 22q13.3 (TUPLE1, N85A3) (CytoCell, OGT, Spojené Království)
E17008	Duplikace 16p11.2	16p11.2 lokus specifická (RP11-301D18) (Cytocell, OGT, Spojené Království); Aquarius subtelomere specific probe 16p (RH80305) (Cytocell, OGT, Spojené Království)
E17038	Delece 15q13.1q13.3	Aquarius subtelomere specific probe 15q (D15S936) (CytoCell, OGT, Spojené Království) 15q13.3 lokus specifická sonda (RP11-30N-16) (BlueGnome, Spojené Království)
E18006	Delece 22q13.31q13.33	Aquarius microdeletion probe DiGeorge and 22q13.3 (TUPLE1, N85A3) (CytoCell, OGT, Spojené Království)
E18049	Nebalancovaná translokace 13,18	Aquarius subtelomere specific probe 18p (D18S552) (Cytocell, OGT, Spojené Království)
E18051	Nebalancovaná translokace 5, 8	Aquarius subtelomere specific probe 5pq (RH120167, D5S2907) (Cytocell, OGT, Spojené Království) Aquarius subtelomere specific probe 8pq (RH40619, D8S595) (CytoCell, OGT, Spojené Království)
E18058	Marker chromozom 17p11.2q11.2	Centromera 17 (XCE 17) (Metasystem, Německo) Malovací sondy pro 17p a 17q (XCAP 17p, XCAP 17q) (Metasystem, Německo)

3.4 Diagnostický algoritmus

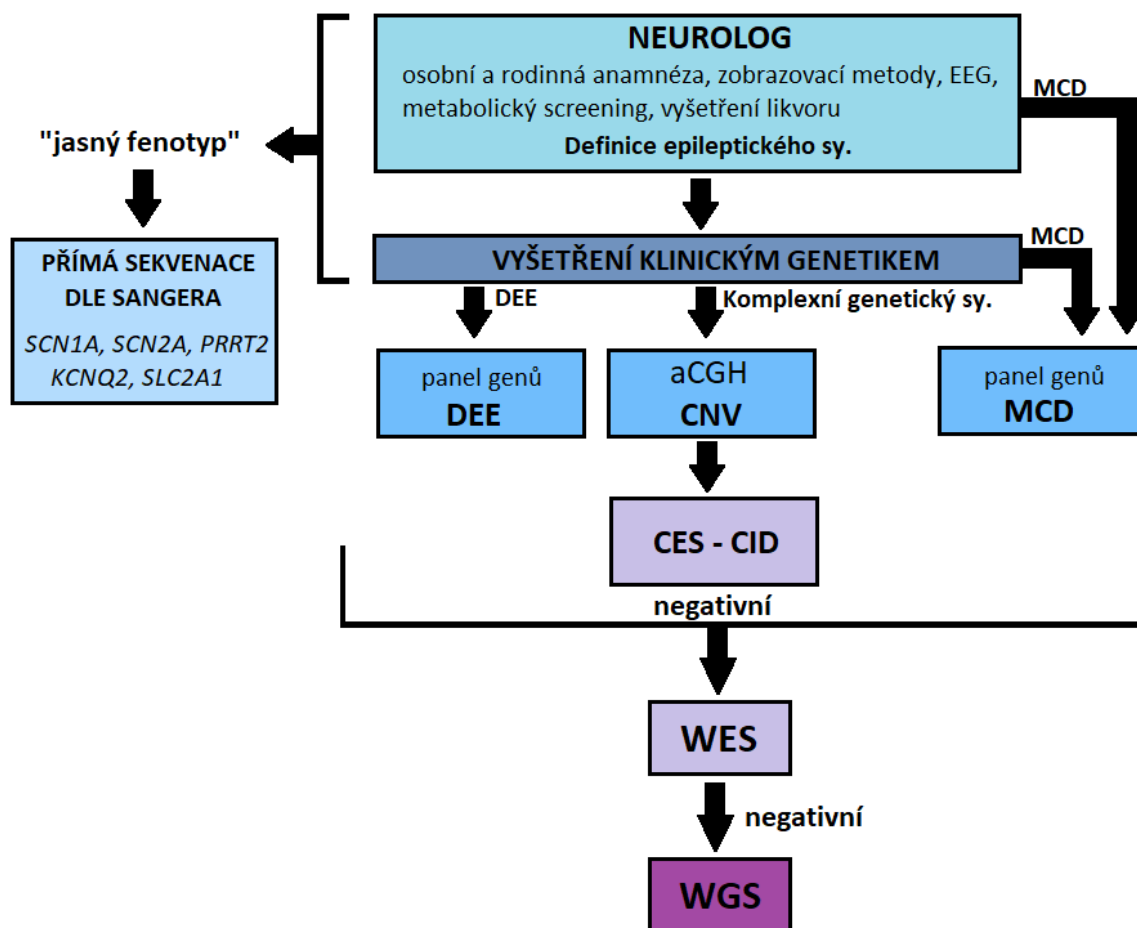
Diagnostický algoritmus, na jehož prvotním návrhu se podíleli lékaři z KDN 2. LF UK a FNM, Neurologické kliniky 2. LF UK a FNM a ÚBLG 2. LF UK a FNM, vycházel z dat o záchytnosti patogenních CNV/SNV publikovaných v literatuře a postupně docházelo k jeho optimalizaci.

Prvním krokem v tomto algoritmu bylo klinické vyšetření pacienta neurologem specializovaným na epilepsie s cílem definovat typ epilepsie/epileptický syndrom. V řadě případů bylo zároveň provedeno zobrazení CNS pomocí MRI v patřičném protokolu, EEG či její modifikace a metabolický screening.

Pokud tato vyšetření vedla ke konkrétním klinickým závěrům (např. klinicky jednoznačný sy. Dravetové, podezření na GLUT1 deficit, benigní familiární infantilní záchvaty (BFIS), benigní familiární novorozenecké záchvaty či jiné jasně definované jednotky), byl pacient referován ke klinickému genetikovi s prioritním požadavkem na vyšetření konkrétních kauzálních genomických variant v jednotlivých genech způsobujících daný fenotyp (např. *SCN1A*, *SLC2A1*, *PRRT2*, *KCNQ2*, *SCN2A*) sekvenováním dle Sangera. V případech, kdy byl neurologicky diagnostikován typ epilepsie, který je z genetického hlediska heterogenní s relativně vysokou pravděpodobností identifikace genetické příčiny, avšak bez efektivní možnosti provedení cíleného vyšetření konkrétního genu právě pro značnou heterogenitu (např. průkaz MCD pomocí MRI CNS nebo jasně klinicky diagnostikovaná DEE ovšem blíže nezařaditelná), posoudil klinický genetik, zda se jedná či nejedná o syndromové postižení a dle toho zvolil prioritní metodu detekce genomických variant. U pacientů se syndromovým komplexním postižením, s komorbiditami typu PAS, ID, ADHD atd., faciální dysmorfii a VVV postihujícími jiné orgánové systémy byla metodou první volby aCGH, u pacientů s nesyndromovou DEE nebo u pacientů s MCD bylo metodou první volby MPS se zaměřením na kauzální geny spojené s daným typem epilepsie. U pacientů, u nichž se nepodařilo typ epilepsie přesně identifikovat nebo u pacientů trpících epilepsií z okruhu GGE, byl postup obdobný, avšak u těchto pacientů byl očekávaný záchyt kauzálních genomických variant menší. Metoda první volby detekce genomických variant se i zde řídila dle toho, zda se jednalo o izolované či komplexní syndromové postižení. Podmínkou pro vyšetření metodami MPS byla dostupnost vzorku obou biologických rodičů. Část pacientů ze souboru tuto podmínku nesplňovala, a proto nebyli touto metodou vyšetřeni.

U pacientů se silným podezřením na genetickou příčinu epilepsie, u kterých se výše uvedeným postupem nepodařilo odhalit kauzální patogenní variantu (a u kterých byl zároveň

dostupný vzorek obou biologických rodičů), následovalo vyšetření metodami WES a v některých případech i WGS.



Obrázek 11: Navržený diagnostický algoritmus

EEG: elektroencefalografie, MCD: malformace korového vývoje, aCGH: komparativní genomová hybridizace na čípech, DEE: Vývojové a epileptické encefalopatie, CES – CID: celoexomové sekvenování zaměřené na vrozenou intelektovou nedostatečnost, WES: celoexomové sekvenování, WGS: celogenomové sekvenování, CNV – varianta v počtu kopií

3.5 Detekce SNV

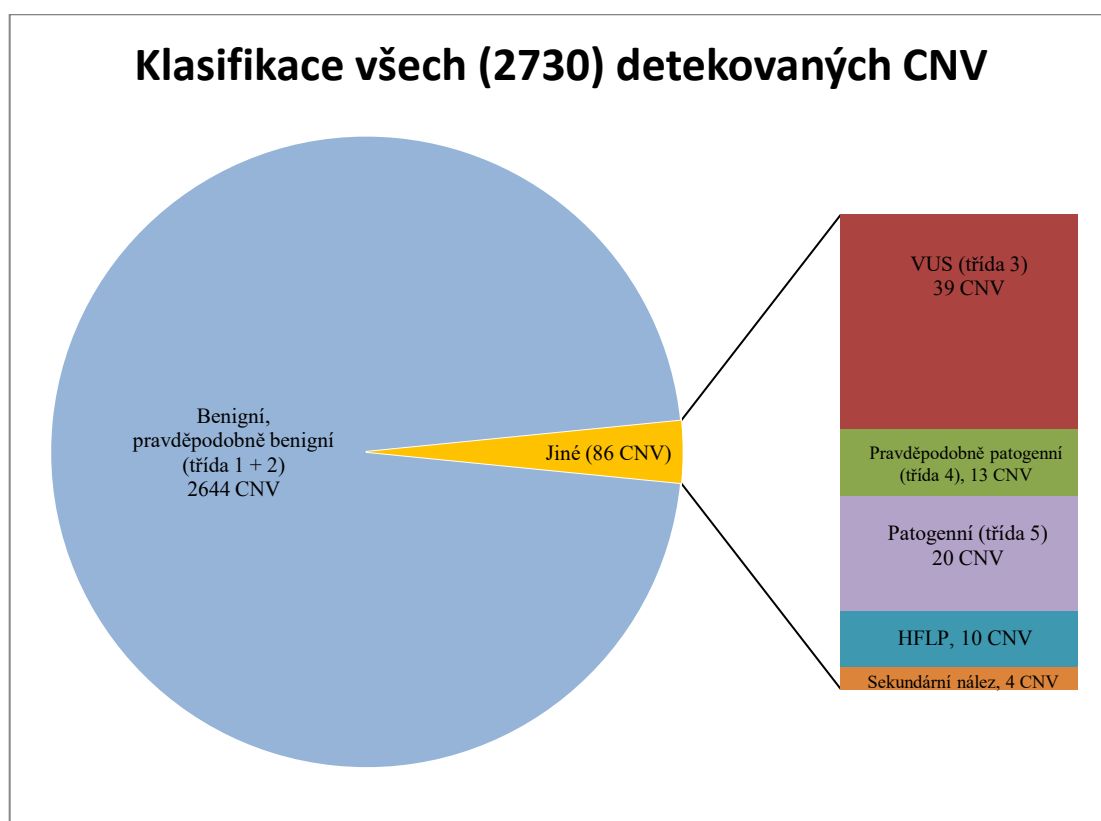
U 264/400 pacientů bylo provedeno, resp. dokončeno i vyšetření pomocí sekvenčních metod – Sangerovo sekvenování či MPS ve spolupráci s Neurogenetickou laboratoří KDN 2. LF UK a FNM a Oddělením molekulární genetiky ÚBLG 2. LF UK a FNM. Hodnocení takto získaných dat nebylo cílem práce a není její primární součástí. Nicméně tato data byla v některých případech použita k upřesnění nálezu u pacienta s podezřelou CNV a/nebo k upřesnění korelace genotypu s fenotypem.

Pacienti ze souboru byli vyšetřeni několika různými typy panelů a u části z nich bylo provedeno i celoexomové sekvenování (WES) nebo celogenomové sekvenování (WGS). U 256/400 (64 %) jedinců bylo indikováno vyšetření panelu genů (panel DEE, panel MCD, panel CID). Kauzální SNV byla detekována u 40/256 (16 %) vyšetřených jedinců. WES byl proveden u 80/400 (20 %) a patogenní či pravděpodobně patogenní SNV byla detekována u 19/80 (24 %). Pro přehlednost je ve výsledcích použit zkrácený název použitých panelů (panel DEE, panel MCD, panel CID). Design jednotlivých panelů je k dohledání na stránkách společnosti lékařské genetiky (<https://slg.cz/pracoviste/mg/ngs/>).

- Panel DEE – Panel genů asociovaných s časnou a závažnou dětskou epilepsií a epileptickou encefalopatií (Ing. Lucie Sedláčková, Ph.D; doc. MUDr. Petra Laššuthová, Ph.D.)
- Panel MCD – Panel genů asociovaných s MCD (MUDr. Barbora Straka, Ph.D., MUDr. Barbora Heřmanovská)
- Panel CID – panel genů asociovaných s intelektovou nedostatečností (RNDr. Petra Hedvičáková)

4 Výsledky a diskuze

Metodou aCGH bylo vyšetřeno 400 jedinců. Celkem bylo detekováno 2730 CNV (třídy 1–5). 2644/2730 (97 %) CNV představovaly benigní a pravděpodobně benigní varianty (třída 1 a 2). Zbývá 3 % (tedy 86/2730) detekovaných CNV byla vyhodnocena jako klinicky potenciálně relevantní pro epilepsii (třída 3–5, varianty typu HFLP) nebo jako patogenní CNV, které byly sekundárními nálezy (nesouvisející s epilepsií) (*Graf 3*). Dále v textu budou diskutovány pouze CNV, které byly hodnoceny jako třída 3–5 nebo HFLP.



Graf 3: Klasifikace všech (2730) detekovaných CNV

CNV: varianta v počtu kopií, HFLP: varianty s vysokou frekvencí a nízkou penetrancí

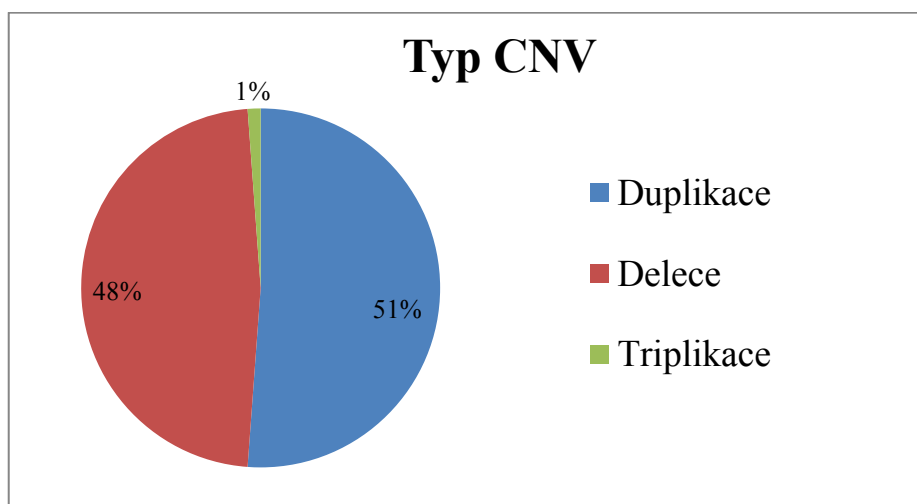
U 324/400 (81 %) jedinců byly detekovány pouze benigní a pravděpodobně benigní CNV (třída 1 a 2), kterými se předkládaná práce nadále nezabývá. V průměru nesl každý jedinec ze souboru ~ 7 CNV třídy 1 či 2.

U 76/400 (19 %) jedinců byla detekována alespoň jedna potenciálně klinicky významná CNV (třída 3–5 či HFLP), z toho 68/76 (89,5 %) jedinců neslo pouze jednu klinicky potenciálně relevantní CNV a u 8/76 (10,5 %) jedinců byly detekovány ≥ 2 klinicky potenciálně relevantní CNV. V případě nálezu dvou a více CNV se nejčastěji jednalo o

kombinaci duplikace a delece, vzniklých jako důsledek nebalancované translokace. Celkem bylo u 76 jedinců detekováno 86 CNV zařazených do třídy 3-5 či HFLP.

Následující text práce je zaměřen pouze na 86 detekovaných klinicky potenciálně relevantních CNV.

Nejčastějším typem detekovaných CNV byly duplikace (44/86), následované delecemi (41/86). V jednom případě byla nalezena triplikace (1/86) (*Graf 4*).



Graf 4: Typ detekovaných CNV

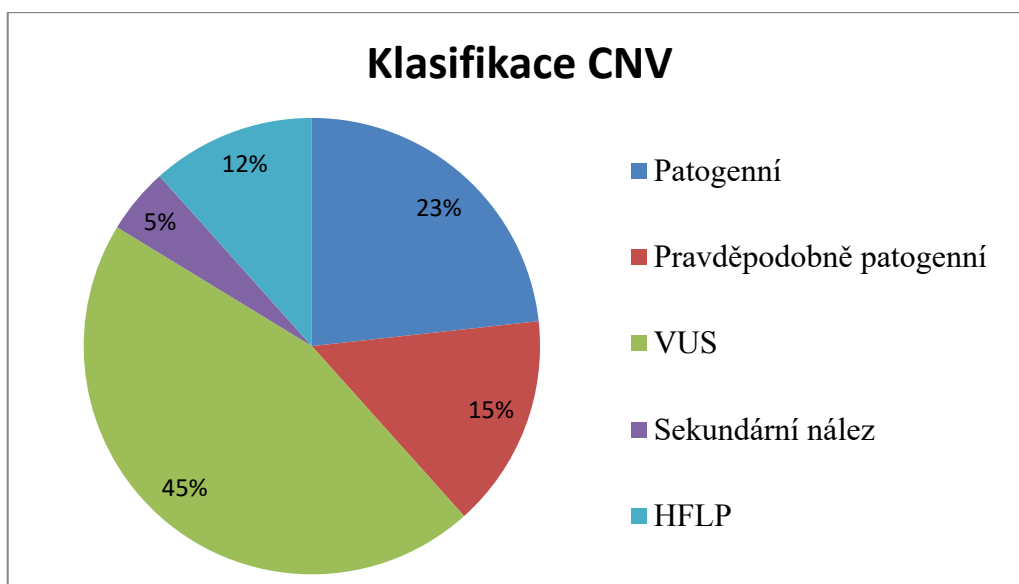
Vychází z celkového počtu 86 detekovaných klinicky potenciálně relevantních CNV.

Rozsah detekovaných CNV třídy 3-5 a HFLP se u duplikací pohyboval v rozmezí 25 kb – 22,8 Mb. Průměrná velikost aberace byla 2,1 Mb a medián 641 kb. U delecí se rozsah CNV pohyboval v rozmezí 13 kb – 13 Mb. CNV měly průměrnou velikost 1,6 Mb s mediánem 534 kb. Největšími detekovanými aberacemi byla delece o rozsahu 13 Mb a duplikace o rozsahu 22,8 Mb.

Nejmenší detekovanou aberací byly delece o rozsahu 13 kb a duplikace o velikosti 25 kb. Ačkoli je tento rozsah pod nastavenou rozlišovací schopností použitých platforem (100 kb a 200 kb), byly obě varianty, vzhledem k tomu, že byla splněna nastavená kritéria (kvalita čipu, detekční algoritmus), reportovány. V případě detekce CNV pod rozlišovací schopností platformy je vždy potřeba hodnotit klinickou relevanci individuálně, s přihlédnutím k fenotypu vyšetřovaného probanda. Ideální je rovněž ověření takového nálezu další nezávislou metodou. Zde je však často problémem nedostupnost vhodných metod pro ověřování rozsahově malých duplikací a delecí.

Z hlediska klinické signifikance (*Graf 5*) byly nejčastěji detekovány varianty charakteru VUS, kterých bylo zachyceno 39/86 (45,3 %). Celkem 20/86 (23,3 %) CNV bylo

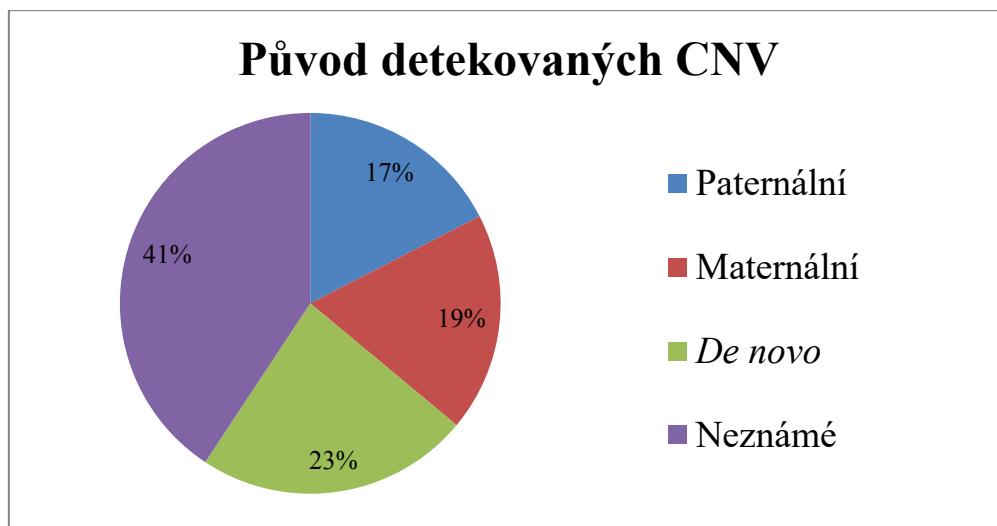
klasifikováno jako patogenní, 13/86 (15,1 %) jako pravděpodobně patogenní a 10/86 (11,6 %) variant bylo uzavřeno jako HFLP. Jako sekundární nálezy byly vyhodnoceny 4/86 (4,7 %) detekovaných CNV. Jednalo se o patogenní CNV v heterozygotním stavu, které jsou příčinou rozvoje AR onemocnění, při postižení obou alel genu (homozygotní CNV/SNV).



Graf 5: Klinická klasifikace detekovaných variant

Celkem bylo zachyceno 86 klinicky potenciálně relevantních CNV, výsledná procenta vycházejí z tohoto počtu. HFLP: Varianty s vysokou frekvencí a nízkou penetrancí, VUS: varianta nejasného klinického významu

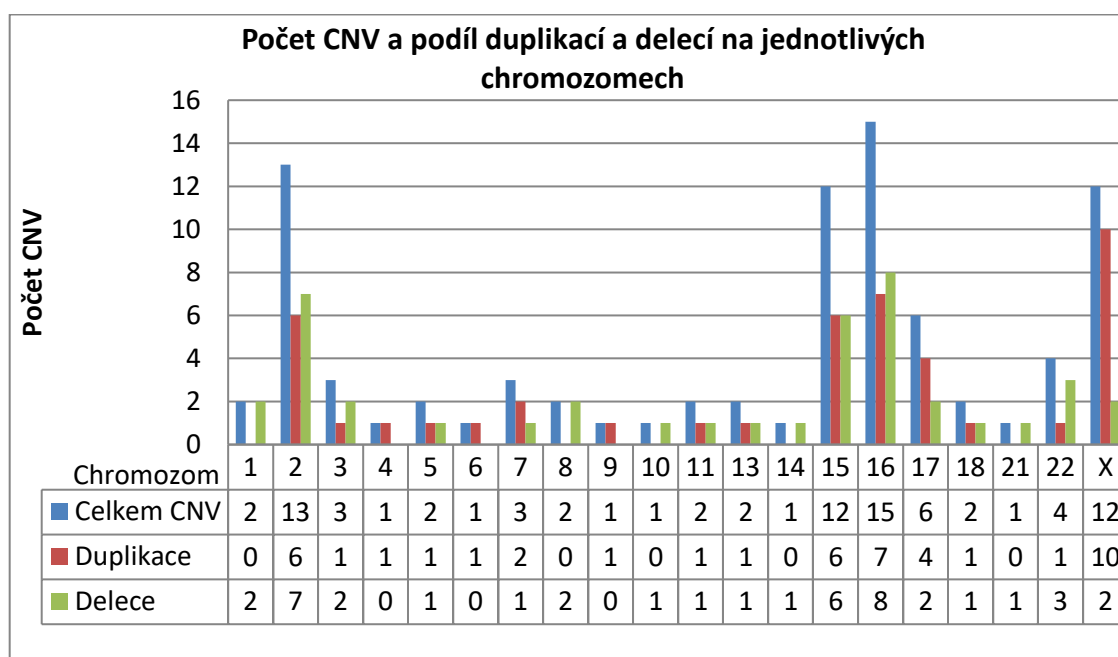
Původ aberace (i) bylo možno ověřit a uzavřít u 46/76 (61 %) jedinců nesoucích klinicky suspektní CNV. U 10/76 (13 %) pacientů se nepodařilo původ varianty určit, přestože byl k dispozici genetický materiál od jednoho z obou rodičů. U 20/76 (26 %) pacientů nebyl pro vyšetření k dispozici materiál od žádného z rodičů nebo rodiče s provedením segregační analýzy nesouhlasili. 31/86 (36 %) detekovaných CNV bylo maternálního či paternálního původu. Z toho 2/31 (6,5 %) byly zděděny od rodiče s epilepsií, u 1/31 (3,2 %) nejsou informace o fenotypu rodiče známy a 25/31 (80,6 %) CNV bylo zděděno od klinicky zdravého rodiče. Nicméně u dvou z těchto 25 rodičů byly popsány obtíže typu ADHD a blíže neurčené psychologické poruchy. V jednom případě je popsána pozitivní rodinná anamnéza epilepsie v linii jednoho z rodičů, ale rodič sám epilepsií netrpí. Segregační analýza prokázala *de novo* původ u 20/86 (23 %) CNV a u 35/86 (41 %) zůstal původ CNV neznámý (Graf 6).



Graf 6: Původ detekovaných CNV

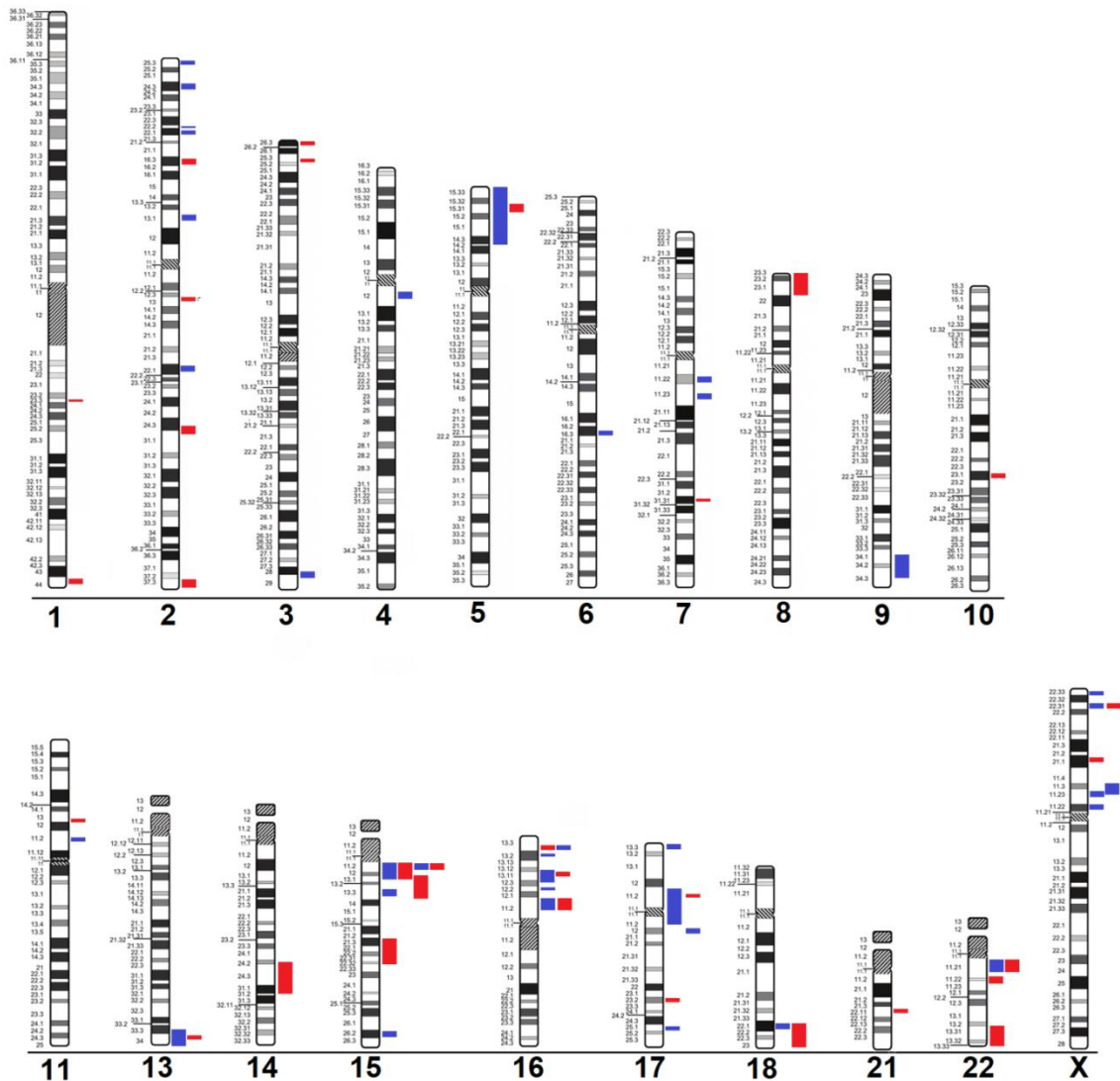
U 51/86 (59 %) klinicky potenciálně relevantních CNV se podařilo objasnit původ.

Klinicky suspektní CNV, s potenciálním vztahem k rozvoji NVO či epilepsií, byly detekovány na všech chromozomech kromě chromozomů 12, 19, 20 a Y. Poměr výskytu duplikací/delecí u zasažených chromozomů byl zhruba 50:50 s výjimkou chromozomu X, kde výrazně převažovaly duplikace, čítající 10/12 zachycených CNV. Počet CNV s ohledem na jejich typ a lokalizaci je zobrazen v *Grafu 7*. Na *Obrázku 12* je znázorněna přibližná poloha detekovaných potenciálně kauzálních CNV.



Graf 7: Počet CNV a podíl duplikací a delecí na jednotlivých chromozomech.

Uvedená data vycházejí z celkového počtu 86 zachycených CNV, která by mohla mít negativní dopad na fenotyp ve smyslu epilepsie či NVO.



Obrázek 12: Znázornění polohy detekovaných klinicky potenciálně relevantních CNV
 Jednotlivé červené a modré obdelníky znázorňují přibližnou polohu detekovaných CNV lokalizovaných na příslušném chromozomu/chromozomovém pruhu. Červené obdelníky – delece, modré obdelníky – duplikace.

4.1 CNV vyskytující se v souboru opakovaně

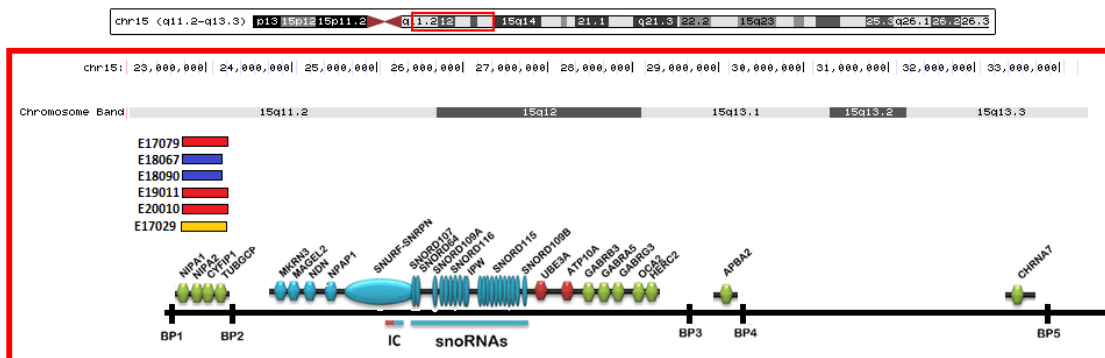
Při analýze získaných dat bylo zjištěno, že některé CNV byly detekovány v souboru opakovaně napříč skupinami. Tyto CNV tedy budeme diskutovat na prvním místě. Jednalo se jak o rekurentní CNV, tak o nerekurentní intragenové CNV zasahující jeden gen, avšak vždy v jiné lokalizaci. Z rekurentních CNV se jednalo o duplikace a delece oblasti 15q11.2; duplikace oblasti Xp22.31 a duplikace a delece oblasti 16p11.2. Skupinu nerekurentních CNV představovaly intragenové CNV zasahující gen *NRXN1* (2p16.3) a *RBFOX1* (16p13.3). V *Tabulce 6* je uveden přehled těchto variant, četnost výskytu v jednotlivých skupinách a seznam jedinců s daným CNV. Vliv těchto CNV na rozvoj NVO a epilepsie je diskutován v následujících podkapitolách.

Tabulka 6: Rekurentní a nerekurentní CNV detekované u více než jednoho pacienta bez ohledu na jeho zařazení do skupiny dle klinického obrazu

Oblast	Typ CNV	Celkový počet	Skupina (četnost ve skupině)	Pacienti
15q11.2	delece	3	A (1), B (1), C (1)	E17079, E19011, E20010
	duplikace	2	B (1) C (1)	E18067, E18090
	triplikace	1	C (1)	E17029
16p11.2	delece	3	A (1), C (2)	E19079, E21012, E21018
	duplikace	2	C (1), D(1)	E17008, E17070
Xp22.31	duplikace	5	A (2), C (2), D (1)	E17080, E19013, E19015, E19070, E21003
<i>RBFOX1</i> (16p13.3)	delece	3	A (1), C (1), D (1)	E19011, E21055
	duplikace	2	C (1), D (1)	E21013, E21026
<i>NRXN1</i> (2p16.3)	delece	4	B (1), C (3)	E17051, E18031, E21003, E21006

4.1.1 Duplikace a delece oblasti 15q11.2 (BP1-BP2)

V chromozomové oblasti 15q11.2, respektive mezi zlomovými místy BP1 – BP2, bylo detekováno celkem 5 CNV – tři delece, dvě duplikace a jedna tripplikace (*Obrázek 13*).



Obrázek 13: CNV oblasti 15q11.2, detekované mezi zlomovými místy BP1 – BP2

Na obrázku jsou znázorněny delece (červené obdelníky), duplikace (modré obdelníky) a triplikace (žlutý obdelník). Spodní část obrázku zobrazuje rozložení typických zlomových míst proximální oblasti 15q11q13 (BP1-BP2). Pro jednotlivá zlomová místa je navíc uveden genový obsah. Oblast snoRNAs, označuje geny, kódující malé jadéřkové RNA. BP – zlomové místo, IC – imprintingové centrum, snoRNAs - (small nucleolar ribonucleic acid (RNA)). Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>. Ideogram zlomových míst převzat a upraven z Butler 2019.

Tato oblast o velikosti 450 - 550 kb obsahuje čtyři neimprintované vysoce konzervované geny s bialelickou expresí – *NIPA1*, *NIPA2*, *CYFIP1* a *TUBGCP5*, které se podílejí na správné funkci CNS (Chai et al. 2003).

Patogenní SNV genu *NIPA1* [OMIM *608145] jsou kauzální pro rozvoj spastické paraplegie [OMIM #600363, ORPHA:100988] (Rainier et al. 2003). Patogenní SNV genu *NIPA2* [OMIM *608146] byly detekovány u dětských absencí (Jiang et al. 2012) a SNV v genu *TUBGCP5* [OMIM *608147] u obsedantně kompulzivní poruchy (De Wolf et al. 2013).

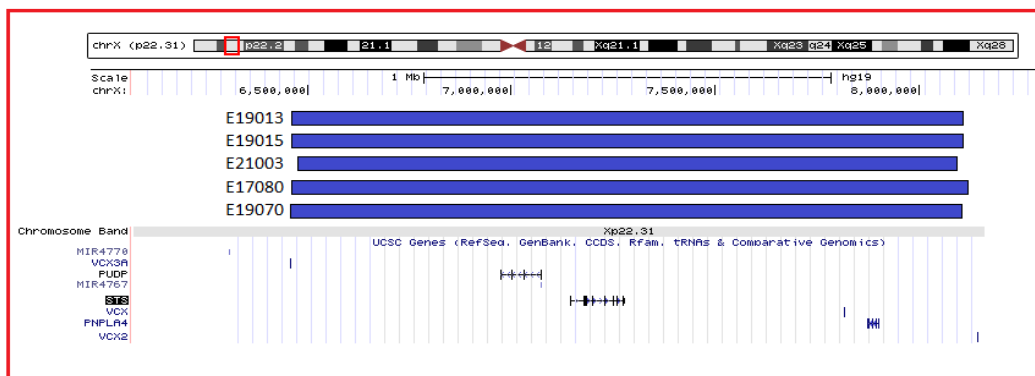
Poslední ze zmiňovaných genů *CYFIP1* [OMIM *617978], se přes interakci s *RAC1* (malá GTPáza) nejspíše podílí na formaci neurálních struktur (Kobayashi et al. 1998) a jeho delece simulovaná u kmenových buněk vedla ke vzniku abnormalit typu „dendritic spine“ (Das et al. 2015). Vzhledem k zapojení výše zmíněných genů do vývoje CNS je pro CNV této oblasti typický rozvoj NVO. U jedinců je nejčastěji popisováno vývojové opoždění (73 %), poruchy vývoje řeči (67 %), poruchy chování (55 %), malformace CNS (43 %), PAS (27 %) a epilepsie (26 %). Pro oblast je typická neúplná penetrance a variabilní expresivita fenotypových projevů (Burnside et al., 2011; Cox et Butler, 2015; Vanlerberghe et al., 2015; Butler, 2017). Rozvoj epilepsie byl pozorován u delecí i duplikací, přičemž u delecí je prevalence výskytu v porovnání s duplikacemi větší (25 % vs 12 %) (Cox et al. 2015). De Kovel et al. 2010 označuje oblast BP1 – BP2 jako lokus, predisponující k rozvoji GGE. Jønch et al. 2019 předpokládají, že delece by mohly hrát spíše doplňující roli k dalším

genetickým i negenetickým faktorům, vedoucím k rozvoji NVO, nicméně asociace s NVO není zcela vyloučena. Nejnovější publikace od Kang et al. 2021 však případnou souvislost s rozvojem NVO u duplikací i delecí v této oblasti spíše vyvrací. Vzhledem k výše zmíněnému se jako nejvhodnější pro reportování jeví označení duplikací/delecí oblasti 15q11.2 jako HFLP. Vyšší pozornost je nutné těmto CNV věnovat především v případě výskytu další SNV či CNV v tzv. modelu „*second-hit*“. Nález druhé aberace v kombinaci s duplikací/delecí oblasti 15q11.2 byl pozorován u dvou výše zmíněných pacientů (E18090 a E19011). V prvním případě (E18090) se jednalo o kombinaci duplikace 15q11.2 a pravděpodobně patogenní SNV v genu *KCNQ2*, která vysvětluje fenotyp probandky lépe, nicméně podíl duplikace 15q11.2 na celkovém fenotypu nelze vyloučit. Ve druhém případě (E19011) byla detekována delece oblasti 15q11.2 a delece 16p13.3 zasahující 2. exon genu *RBFOX1* (viz kapitola 4.1.4).

V případě triplikace, vedoucí ke vzniku sSMC(15) byla varianta u pacienta E17029 uzavřena jako pravděpodobně patogenní. V dostupné literatuře jsou uváděny především sSMC většího rozsahu odvozené z oblasti 15q11q13, u nichž je epilepsie často popisovaným fenotypovým znakem (Lusk et al. 1993; Castronovo et al. 2015). V našem případě se jednalo o sSMC pouze z oblasti 15q11.2, jehož klinická signifikance je z hlediska epilepsií diskutována výše. V databázi Thomase Liehra, lze dohledat několik pacientů se sSMC u nichž je nejčastěji popsáno vývojové opoždění, ID a v menší míře také epilepsie. Na základě těchto informací byla triplikace uzavřena jako pravděpodobná příčina obtíží u probanda.

4.1.2 Duplikace oblasti Xp22.31

Celkem 5 rekurentních duplikací (*Obrázek 14*) bylo detekováno v chromozomové oblasti Xp22.31. Ve třech případech byla varianta detekována u jedinců mužského pohlaví a ve dvou případech u jedinců ženského pohlaví. U jednoho z chlapců byl původ varianty uzavřen jako *de novo* (E19013). U pacienta E21003 byla varianta zděděna od zdravé matky. U chlapce E19015 nebylo vyšetření segregace provedeno z důvodu chybějící DNA obou rodičů. V případě dívky E17080 byla varianta zděděna od zdravého otce a u dívky E19070 od zdravé matky.



Obrázek 14: Duplikace chromozomové oblasti Xp22.31

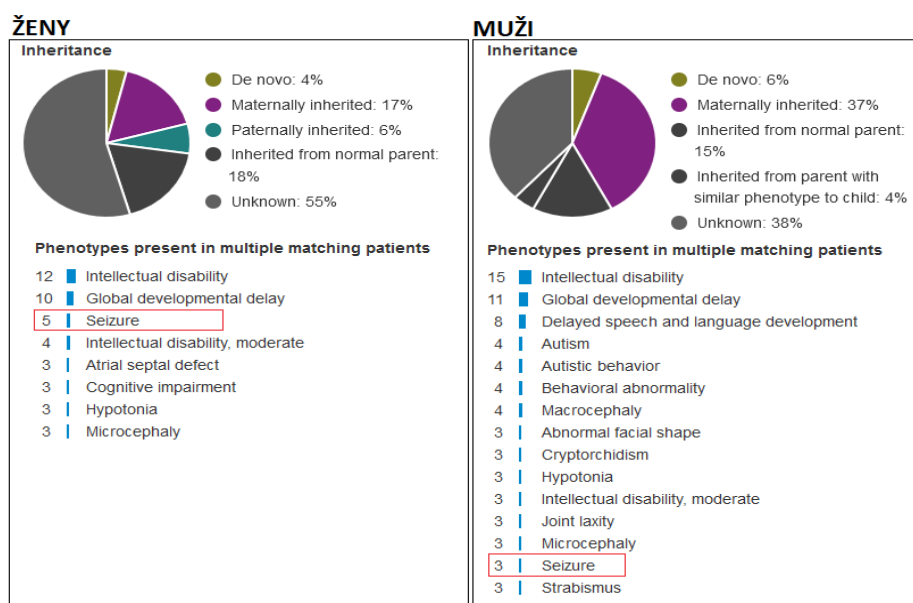
Modré obdelníky zobrazují přibližný rozsah duplikací. Ve spodní části jsou uvedeny geny zasazené duplikací a geny v proximální a distální oblasti od zlomových míst aberace. Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>.

Duplikace oblasti Xp22.31 o průměrné velikosti 1,66 Mb zasahují 5 OMIM genů. Klinická klasifikace této duplikace je předmětem několika studií. V současné době je duplikace některými skupinami uzavírána jako benigní, jindy je označována za rizikový faktor nebo je klasifikována jako VUS. Li et al. 2010 provedli studii na 7793 pacientech s vývojovým opožděním, ID, PAS, VVV a faciální dysmorfii. Duplikaci oblasti Xp22.31 detekovali u 29 pacientů (12 ♂/17 ♀). U 20 pacientů byla duplikace zděděna od jednoho z rodičů – v 18 případech se jednalo o „klinicky zdravého rodiče“ (pohlaví nebylo specifikováno) a ve dvou případech (u dvou matek) byl referován abnormální fenotyp rodiče (PAS, vývojové opoždění, psychiatrické problémy, epilepsie). Liu et al. 2011 zavzali do své studie 14 osob (11 ♂/3 ♀) s duplikací, ev. triplikací dané oblasti. Pacienti vykazovali mírné až středně těžké opoždění motorického vývoje. Duplikace byla však prokázána ve větší míře také u kontrolní skupiny, čímž byla její případná patogenita zpochybněna. Furrow et al., 2011 též patogenitu duplikace Xp22.31 vyvracejí, neboť byla nalezena u několika desítek nepostižených mužů. Esplin et al. 2014 doplňují k fenotypu možné křeče, hlezenní anomálie (*talipes varus*, *talipes equinovarus*) a variabilní faciální dysmorfii. Addis et al. 2018 a Brinciotti et al. 2019 podporují hypotézu o pravděpodobném vlivu duplikací na rozvoj epilepsie. Brinciotti M. et al. 2019 publikovali případ rodiny, ve které u dvou sourozenců s epilepsií (fokální epilepsie u chlapce a generalizované tonicko-klonické křeče u dívky) byla identifikována totožná duplikační varianta, jež byla zděděna od matky bez projevů epilepsie a jiných odchylek. Addis L. et al. 2018 detekovali ve skupině pacientů s rolandickou epilepsií čtyři jedince s duplikací oblasti Xp22.31. Fenotyp mužů i žen je poměrně konstantní a zahrnuje nejčastěji ID a celkové opoždění vývoje (Obrázek 15). Epilepsie byla popsána u jednotek případů. V databázi DECIPHER jsou duplikační varianty

hodnoceny od benigních až po pravděpodobně patogenní. Většina je zděděna od jednoho z rodičů (s/ i bez „patologického“ fenotypu). Gubb et al., 2020 pak upozorňuje, že varianta je spíše než příčinou, rizikovým faktorem a k rozvoji onemocnění pak mohou přispívat další genetické i negenetické faktory.

Tento poznatek by mohl být podpořen pozorováním, kdy byla duplikace Xp22.31 u tří našich pacientů (E19015, E19013, E21003) kombinována s další CNV – 2x VUS a 1x patogenní. Také publikace Li et al. 2010 a Furrow et al. 2011 zmiňují nález další aberace u pacientů s duplikací Xp22.31, nicméně kauzalita těchto aberací není uvedena. Tyto varianty byly na základě t.č. platných kritérií uzavřeny jako skupina HFLP

Jako potenciálně kauzální v případě aberací zasahujících region Xp22.31 se jeví gen *STS* [OMIM *300747] kódující steroidní sulfatázu, která hydrolyzuje neurosteroidy, které plní důležité funkce v rámci CNS. Jednou z těchto funkcí je ovlivnění neurální excitability neurotransmitterových receptorů vlivem udržování hladiny konjugovaných a nekonjugovaných forem neurosteroidů (Kříž et al., 2008).

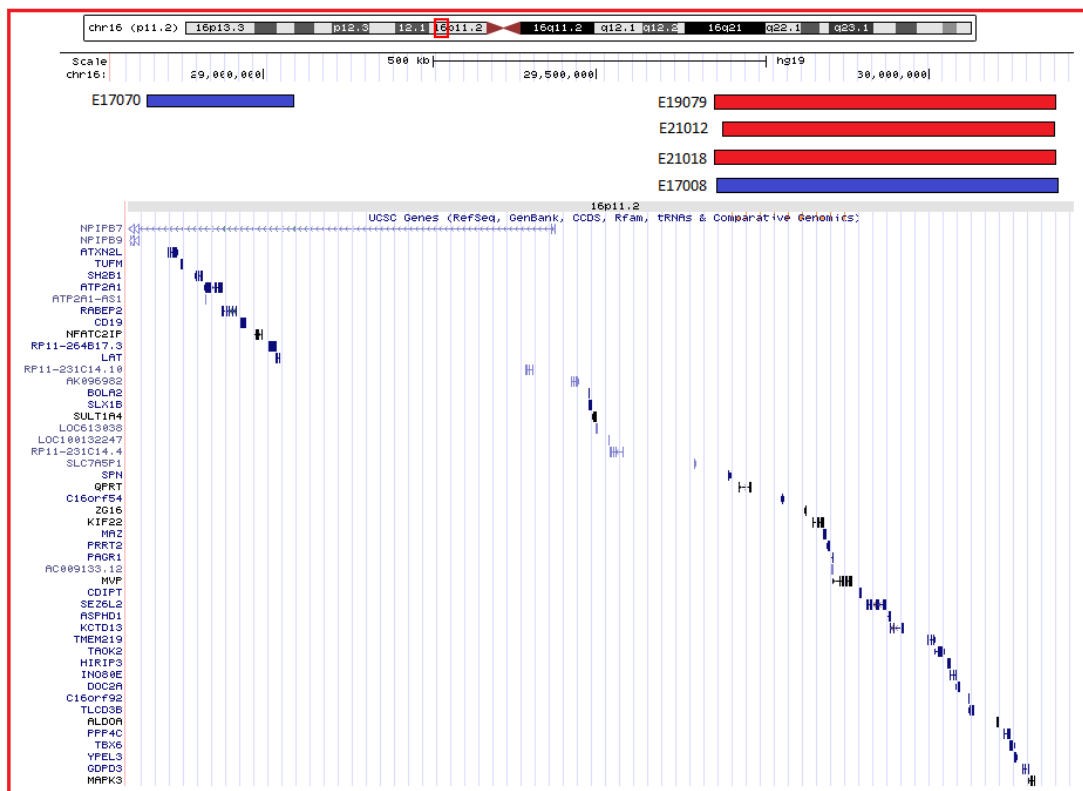


Obrázek 15: Porovnání fenotypů u mužů a žen s duplikací Xp22.31

Převzato z <https://www.deciphergenomics.org/patient/261073/genotype/36539/patient-overlap/cnvs>

4.1.3 Delece a duplikace oblasti 16p11.2

V oblasti 16p11.2 bylo detekováno pět CNV – tři delece a jedna duplikace mezi zlomovými místy BP4-BP5 a jedna duplikace mezi zlomovými místy BP2-BP3 (Obrázek 16). Ve všech případech byla varianta klasifikována jako patogenní související s rozvojem epilepsie.



Obrázek 16: CNV v chromozomové oblasti 16q11.2

Červené a modré obdelníky znázorňují přibližný rozsah detekovaných delecí a duplikací. Ve spodní části jsou uvedeny zasažené geny. Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>.

Oblast 16p11.2 o rozsahu přibližně 650 kb je typická výskytem rekurentních CNV. V této oblasti je popsáno celkem pět zlomových míst BP1-BP5. CNV lokalizované v této oblasti se vyznačují pleiotropním fenotypovým efektem (Reinet Yan, 2020). Nejčastěji popsanými projevy jsou PAS, ID, celkové opoždění vývoje, faciální dysmorfie a epilepsie (Shinawi et al., 2010; Rein et al. 2020; Posar et al. 2020). Penetrance se u delecí pohybuje mezi 47- 62 %, u duplikací mezi 11 – 27 % (Rosenfeld et al. 2013). Oblast obsahuje řadu genů, které se podílejí na procesech regulace transkripce, organizace cytoskeletu, modifikace histonů a modulace enzymů. Dysregulace těchto procesů je hlavní příčinou rozvoje NVO (Rein et al. 2020).

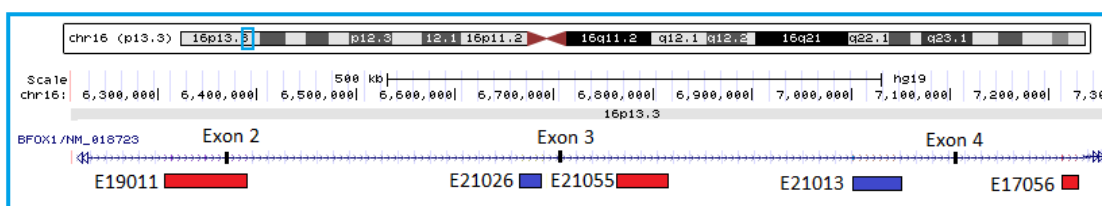
Spojitosť s rozvojem epilepsie u duplikací oblasti mezi zlomovými místy BP2-BP3 je u těchto aberací nejednoznačná. Bachmann-Gagescu et al., 2010 popisuje jednoho pacienta s distální duplikací a epilepsií. Jako potenciálně kauzální je označován gen *LAT* [OMIM *602354], jehož zvýšená exprese byla pozorována ve spojitosti se sníženou proliferací mozkových buněk (Loviglio et al. 2017; Sønderby et al. 2021). V databázi DECIPHER je popsáno několik desítek pacientů; ve fenotypu převažuje celkové opoždění

vývoje a ID. Epilepsie je popsána u čtyř případů. Na základě dostupných informací byla varianta uzavřena jako pravděpodobně patogenní, mající souvislost s rozvojem epilepsie.

Duplikace a delece mezi zlomovými místy BP4-BP5 jsou nejčastěji klasifikovány jako patogenní. Rozvoj NVO zahrnující epilepsii patří mezi typické fenotypové znaky. Prevalence epilepsie u delecí a duplikací je téměř srovnatelná a pohybuje se kolem 25 %. Jsou popisovány fokální i generalizované formy epilepsie (Zufferey et al. 2012; Steinman et al. 2016; Rein et al. 2020).

4.1.4 Intragenové CNV zasahující gen *RBFOX1*

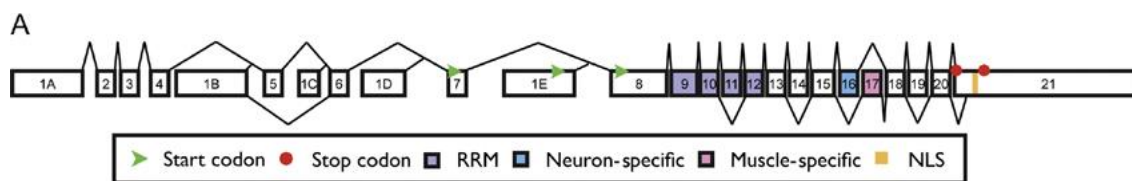
Celkem 5 detekovaných CNV zasahovalo gen *RBFOX1* [OMIM *605104, NM_018723.4] (Obrázek 17). Jednalo se o tři delece, z nichž dvě byly lokalizovány v intronu 3 a 4, jedna zasahovala intron 1 a navíc exon 2, a dále dvě duplikace lokalizované v intronu 2 a intronu 3.



Obrázek 17: Intragenové CNV v genu *RBFOX1*

Červené a modré obdelníky znázorňují přibližný rozsah detekovaných delecí (červená) a duplikací (modrá). Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>.

Proteinový produkt genu *RBFOX1* patří mezi faktory ovlivňující sestřih a je exprimován ve svalové, nervové a srdeční tkáni (Auweter et al. 2006). Procesem alternativního splicingu produktu genu *RBFOX1* vzniká značné množství transkriptů (Obrázek 18) (Bill et al. 2013). Gen je nezbytný pro kontrolu neurální excitace v mozku savců. Homozygotní i heterozygotní „knock-out“ myšších modelů sice neprokázal změny v morfologii mozku, ale došlo ke spontánnímu rozvoji křečí vlivem změn synaptického přenosu a zvýšením membránové excitability (Gehman et al. 2011).



Obrázek 18: Struktura genu *RBFOX1*

Na obrázku jsou znázorněny různé start kodony (zelené šipky), stop kodony (červená kolečka). Barevně jsou pak znázorněny exony, které jsou primárně transkribovány u specifických tkáňových alternativ genu (RRM - RNA recognition motif, NLS – nuclear localization signal) převzato z (Bill et al. 2013).

Delece postihující kódující i nekódující sekvenční genu byly publikovány řadou autorů. Lal et al., 2013b popisují aberace 5' oblasti (exony 1-4) u pacientů s GGE, Lal et al., 2013a u rolandické epilepsie. Fanciulli et al. 2014 detekoval delece exonů u ADLTE (Autosomal Dominant Lateral Temporal Epilepsy) a Lal et al., 2015u pacientů s fokální epilepsií. Rozvoj epilepsie u 50 % jedinců nesoucích jak intronové, tak exonové CNV genu *RBFOX1* popsal Zhao, 2013. Autoři se povětšinou shodují, že klinický impakt CNV genu *RBFOX1* vykazuje neúplnou penetranci. Spíše, než za příčinu označují autoři tato CNV za rizikový faktor pro rozvoj NVO. Na výsledném fenotypu se pak s největší pravděpodobností podílejí další genetické i negenetické faktory (Bill et al. 2013; Lal et al. 2013; Lal et al. 2015). Tuto hypotézu lze podpořit obdobným pozorováním v našem souboru. V rámci vyšetřované kohorty byla kombinace CNV genu *RBFOX1* a další genomové varianty, která primárně nevysvětlovala příčinu rozvoje epilepsie, zjištěna ve třech případech (E19011, E17056 a E21055). U pacientky E19011 se jednalo o kombinaci delece 2. exonu genu *RBFOX1* a delece oblasti 15q11.2, která je známá pro svůj negativní vliv na normální vývoj CNS, avšak s variabilní expresivitou a neúplnou penetrancí. V případě E17056 byla žena s epilepsií nositelkou paternální delece v intronu 4 genu *RBFOX1* a *de novo* SNV genu *CACNA1A* c.184T>C (p.Tyr62His) [OMIM *114205], která nebyla doposud popsána jako patogenní a není v populačních databázích. Rodinní příslušníci, nesoucí pouze identickou aberaci v genu *RBFOX1*, ale nikoliv nepopsanou variantu v *CACNA1A*, nemanifestovali epilepsií.

Paternální delece postihující pouze intronovou část genu *RBFOX1* byla detekována u pacientky E21055. Vyšetření panelu genů asociovaných s MCD prokázalo přítomnost maternální varianty v genu *COL4A1* c.2147C>T (p.Pro716Leu) [OMIM *120130]. Tato varianta je hodnocena jako VUS a byla zděděna od matky bez projevů epilepsie. V tomto případě rovněž žádný ze zdravých rodičů nenesl identickou kombinaci variant jako pacientka s epilepsií a lze tak spekulovat o jejich synergní roli na výsledném fenotypu.

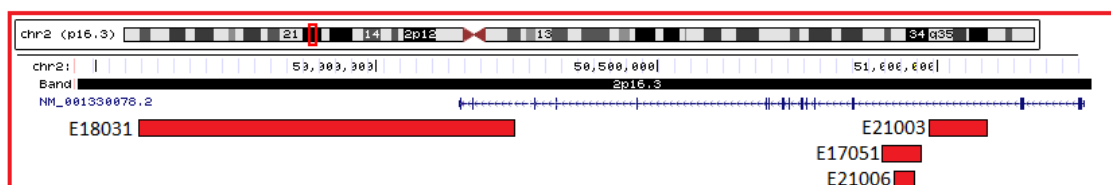
Kromě intragenových delecí byly v souboru popsány také dvě duplikace intronové oblasti genu *RBFOX1*. V jednom případě (E21013) se jednalo o paternální duplikaci v intronu 4, která byla kombinována s nálezem varianty c.44G>A (p.Arg15His) v genu *MEF2C* [OMIM *600662] a byla hodnocena jako pravděpodobně patogenní (třída 4), související s fenotypem. Stejně jako v předchozích případech, otec, který nesl pouze duplikaci v genu *RBFOX1*, nevykazoval žádné známky epilepsie. V tomto případě je nejspíše příčinou rozvoje epilepsie SNV v genu *MEF2C*, nicméně podíl CNV v genu *RBFOX1* na výsledném fenotypu pacienta nelze vyloučit.

V rámci souboru byla detekována také *de novo* vzniklá duplikace (E21026) v oblasti intronu 2. Vyšetření panelu genů spojených s epilepsií, neodhalilo jinou příčinu rozvoje epilepsie ani žádnou VUS.

V souladu s dosud publikovanými údaji se na základě našich výsledků lze domnívat, že intragenové CNV genu *RBFOX1* nejsou samy o sobě schopny způsobit rozvoj onemocnění, avšak k manifestaci může dojít v případě spolupůsobení dalších genetických či negenetických faktorů.

4.1.5 Intragenové CNV genu *NRXN1* (2p16.3)

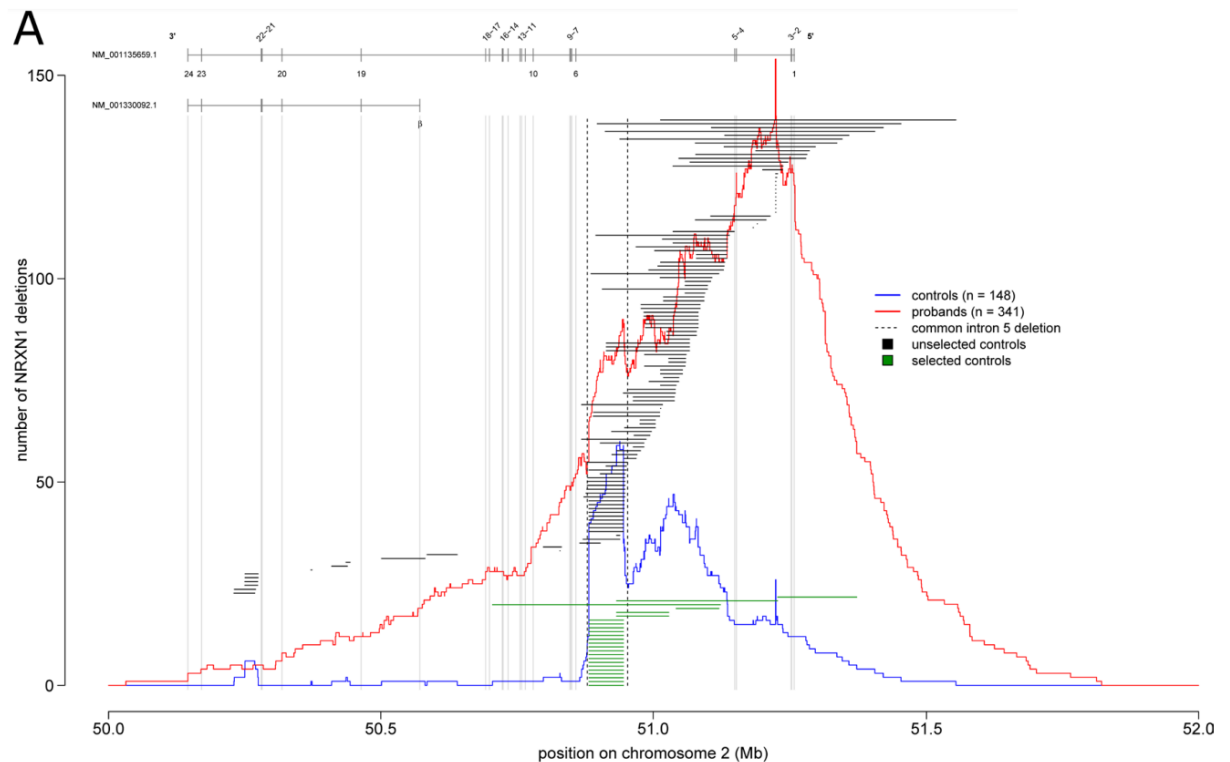
Byly detekovány celkem čtyři delece postihující gen *NRXN1* [OMIM *600565, NM_001330078.2]. Tři rozsahově menší CNV v intronu 5 a jedna delece postihující 5' konec genu, respektive exony 22-23 (Obrázek 19). Malé intronové delece u pacientů E21003, E17051 a E21006 byly zděděny od klinicky „zdravého“ rodiče. Rozsahově větší delece u pacienta E18031 vznikla *de novo*. U pacienta E21003 byly navíc detekovány dvě další CNV – duplikace Xp22.31 (HFLP) a duplikace 11p11.2 (VUS), obě maternálního původu. U ostatních pacientů nebyly detekovány žádné další klinicky významné CNV.



Obrázek 19: Poloha detekovaných delecí v rámci genu *NRXN1*

Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>.

Produktem genu je neurexin, protein nezbytný pro formaci synapsí (Ushkaryov et al. 1992; Missler et al. 1998; Graf et al. 2004). Bodové patogenní varianty a delece genu jsou spojovány s vývojovým opožděním, PAS, ID a schizofrenií. Ve většině případů se jedná o delece 3' oblasti, zahrnující exony 1-5 (Béna et al. 2013; Ching et al. 2010; Dabell et al. 2013). Delece 5' konce genu jsou popisovány v literatuře méně často. Z hlediska epilepsí je kauzalita nejasná. Ucelenou studii výskytu epilepsie u intragenových delecí genu *NRXNI* představil Cosemans et al. 2020. Celkem publikoval 44 případů delecí, z nichž 21 postihovalo exony 1-5, osm oblast intronu 5 a 15 delecí bylo lokalizováno v oblasti mezi exony 6-24. Ačkoli je penetrance fenotypových projevů u jednotlivých delecí rozdílná, z hlediska epilepsie nebyl rozdíl prokázán. Delece postihující intron 5 se zdají být poměrně časté a detekované i u zdravých jedinců (*Obrázek 20*). Schaaf et al., 2012 pak předkládá hypotézu, poukazující na výskyt epilepsie spíše u delecí zasahujících terminální exony. U intronových delecí představuje riziko zasažení případných regulačních elementů, jejichž vliv by byl delecí narušen (Iijima et al. 2011). Jedním z těchto regulačních elementů by mohl být gen pro miRNA – *MIR8485*. Gen je lokalizovaný v intronu 5 genu *NRXNI* a funkčně ovlivňuje jeho expresi (Fan et al. 2014). Dle Garg et al. 2022 změna exprese *MIR8485* může souviset s rozvojem ID.



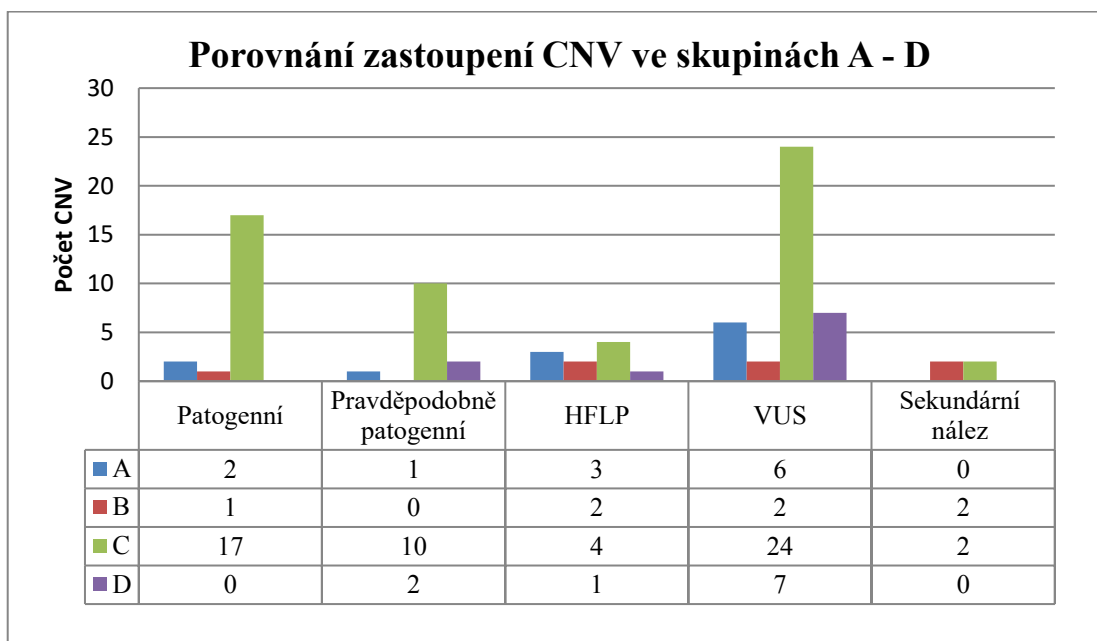
Obrázek 20: Delece *NRXN1* a jejich výskyt u kontrolní skupiny a jedinců s afekcí

Graf zobrazuje lokalizaci a počet delecí genu *NRXN1*. V horní části grafu je zobrazena struktura (rozložení intronů a exonů) transkriptů α a β genu *NRXN1*, kdy jednotlivé nepřerušované svislé čáry lokalizují daný exon. Rozsah běžně detekovaných delecí v oblasti intronu 5 je zobrazena svislou přerušovanou čarou. Jednotlivé horizontální černé a zelené čáry představují jednotlivé delece. Distribuce delecí v rámci genu je zobrazena červeně (jedinci s onemocněním) a modře (kontrolní skupina). Z grafu je patrné, že delece v rámci intronu 5 jsou poměrně běžné u kontrolní skupiny, zatímco delece v oblasti 5' konce genu jsou častěji detekovány u jedinců s onemocněním (převzato z Cosemans et al. 2020).

4.2 CNV detekované v jednotlivých skupinách A–D

Jedním z cílů práce bylo porovnat záchytnost klinicky relevantních CNV v rámci čtyř vyšetřovaných skupin A–D (viz výše).

Ve všech skupinách byly detekovány VUS a varianty typu HFLP. Poměr zastoupení jednotlivých CNV je uveden v *Grafu 8*. Příčina rozvoje epilepsie v souvislosti s nalezenou CNV byla ve skupině A uzavřena u 3/76 (3,9 %), ve skupině B u 1/37 (2,7 %), ve skupině C u 27/249 (10,8 %) a ve skupině D u 2/38 (5,3 %) jedinců. Z našich dat je patrné, že metoda aCGH nalézá uplatnění především ve skupině pacientů s komplexním NVO (skupina C), kde byla objasněnost nejvyšší. Sekundární nálezy tvořily pouhé 1 % (4/400) a v porovnání s metodami MPS je tedy metoda aCGH u epilepsií z hlediska sekundárních nálezů méně problematická.



Graf 8: Zastoupení klinicky suspektně relevantních CNV ve skupinách A–D
HFLP: high frequency, low penetrant, VUS: varianta nejasného klinického významu

V následujících kapitolách 4.2.1 – 4.2.4 jsou detailně diskutovány všechny detekované CNV s výjimkou těch, které byly detekovány opakovaně u více než jedné skupiny a které jsou diskutovány v kapitole 4.1.

V *Tabulce 7* jsou pro přehlednost uvedeny všechny nejasné CNV s vytipovanými potenciálně kauzálními geny, detekované napříč celým souborem. Klinická klasifikace je poměrně problematická u duplikací. Na rozdíl od delecí, u nichž je často primární příčinou

haploinsuficience některého ze zasažených genů, u duplikací je situace komplikovanější a výsledný vliv aberace na transkripci a následnou translaci může být dán např. orientací duplikace spíše než „citlivostí na dávku“. V případě klasické tandemové duplikace je zachována jedna funkční kopie genu a vliv je dán především náchylností genu ke změně genové dávky ve smyslu triplosenzitivity. U invertovaných duplikací již může dojít k vyřazení jedné funkční kopie genu a tím k rozvoji haploinsuficience. V některých případech pak může být duplikace inzertována či translokována do jiné oblasti genomu, čímž může způsobit narušení funkce či regulace jiných genů. Nicméně Newman et al. 2015 ve své studii došli k závěru, že většina duplikací intersticiálních oblastí je tandemových a orientovaných přímo, tudíž nenarušují strukturu genu. Dovyšetření typu a orientace duplikací je však pro klinické laboratoře mnohdy finančně nákladným krokem.

Tabulka 7: Varianty nejasného klinického významu a zasažené, potenciálně kauzální gen(y)

VUS: varianta nejasného klinického významu, „-“: dědičnost neznámá. U maternálních/paternálních CNV je v závorce uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Ne-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Pacient	Skupina	Klasifikace	Nález	Potenciálně kauzální gen(y)	Dědičnost
E17014	C	VUS	duplikace 17p13.3	<i>YWHAE</i>	maternální
E17033	C	VUS	delece 3p26.3	<i>CNTN6</i>	maternální
E17048	C	VUS	delece 13q34	<i>COL4A1</i>	paternální (pozitivní RA pro epilepsii ze strany otce, otec bez projevu epilepsie)
E17051	B	VUS	delece 2p16.3	<i>NRXN1</i>	-
E17056	C	VUS	delece 16p13.3	<i>RBFOX1</i>	paternální
E17060	C	VUS	delece Xp22.31	<i>STS</i>	-
E18007	C	VUS	duplikace 2p25.3	<i>MYT1L</i>	paternální
E18039	A	VUS	delece 16p13.3	<i>ARHGDI3</i>	-
E18058	C	VUS	duplikace 17p11.2q11.2	<i>NOS2, TRAF4</i>	<i>de novo</i>
E18068	D	VUS	duplikace 2p13.1	<i>BOLA3, DCTN1</i>	paternální (ADHD, porucha učení, dyslexie)
E18100	A	VUS	duplikace Xp11.23	<i>SSX1, SSX3, SSX4, SSX9</i>	paternální
E19001	B	VUS	delece 5p15.31	<i>SEMA5A</i>	maternální
E19011	A	VUS	delece 16p13.11	<i>RBFOX1</i>	-
E19015	D	VUS	duplikace 15q13.3	<i>CHRNA7, OTUD7A</i>	-
E19018	C	VUS	delece 22q11.2q11.23	-	maternální
E19034	C	VUS	duplikace 17q25.1	<i>GPRC5C</i>	-
E19039	D	VUS	delece 7q31.1	<i>IMMP2L</i>	-
E19066	C	VUS	duplikace 16p12.2	-	maternální

Pacient	Skupina	Klasifikace	Nález	Potenciálně kauzální gen(y)	Dědičnost
E19077	C	VUS	duplikace 2p22.2	<i>EIF2AK2, QPCT</i>	-
E20002	C	VUS	duplikace 6q16.3	<i>HACE1</i>	paternální (fenotyp není znám)
E20027	A	VUS	duplikace 2p22.1	<i>SOS1, MAP4K3</i>	maternální
E20031	C	VUS	delece 11p13	<i>ELP4</i>	paternální
E20039	C	VUS	delece 1q23.3	-	-
E20041	C	VUS	duplikace 2q22.1	<i>HNMT</i>	-
E21001	C	VUS	duplikace 7q11.22	<i>AUTS2</i>	paternální
E21003	C	VUS	delece 2p16.3	<i>NRXN</i>	paternální
		VUS	duplikace 11p11.2	-	maternální
E21006	C	VUS	delece 2p16.3	<i>NRXN1</i>	maternální
E21009	A	VUS	delece 17q23.2	<i>TANC2</i>	-
E21010	D	VUS	duplikace 4q12	<i>MOB1A, DCTN1</i>	-
E21013	C	VUS	duplikace 16p13.3	<i>RBFOX1</i>	paternální
E21026	D	VUS	duplikace 16p13.3	<i>RBFOX1</i>	<i>de novo</i>
E21027	C	VUS	duplikace 18q22.1	-	-
E21035	D	VUS	delece 1q44	<i>SMYD3</i>	-
E21036	A	VUS	duplikace Xp11.22	<i>HUWE1</i>	-
E21041	C	VUS	delece 10q23.1	<i>NRG3</i>	-
E21055	D	VUS	delece 16p13.3	<i>RBFOX1</i>	-
E21063	C	VUS	duplikace 16p13.2	<i>ABAT</i>	maternální

V Tabulce 8 jsou uvedeny všechny patogenní (třída 5) a pravděpodobně patogenní varianty (třída 4). Penetrance epilepsie se pohybuje od jednotek procent po téměř 100 %. V rodinách jedinců nesoucích CNV paternálního či maternálního původu byla manifestace epilepsie u rodiče se stejnou variantou popsána pouze v jednom případě. Neúplná penetrance a variabilní expresivita ve všech případech značně ztěžuje posuzování klinického významu i v případě patogenních a pravděpodobně patogenních aberací.

Tabulka 8: Pravděpodobně patogenní a patogenní CNV

V tabulce jsou uvedeny patogenní a pravděpodobně patogenní varianty detekované v souboru s uvedením informací o kauzálních genech, dědičnosti a tam kde to bylo dohledatelné také informace o penetranci epilepsie. PP: pravděpodobně patogenní; P: patogenní, CNV: varianta v počtu kopií, „-“: dědičnost neznámá. U maternálních/paternálních CNV je v závorce uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Není-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Pacient	Skupina	Klasifikace	CNV	Kauzální gen(y)/ zasažená oblast	Dědičnost	Penetrance epilepsie (%)
E16008	C	PP	duplikace 22q11.21	<i>DiGeorge region (A-D)</i>	paternální	-
E16021	C	PP	duplikace 9q34.11q34.3	<i>KCNT1, SPTAN1</i>	<i>de novo</i>	-
E17008	C	PP	duplikace 16p11.2	<i>PRRT2, KCTD13</i> <i>16p11.2 mikroduplikace</i>	paternální	19.4-29
E17070	D	PP	duplikace 16p11.2	<i>LAT</i> <i>16p11.2 mikroduplikace</i>	-	19.4-29
E18031	C	PP	delece 2p16.3	<i>NRXN1</i>	<i>de novo</i>	-
E19033	C	PP	duplikace 16p13.11p12.3	<i>NDE1</i>	-	-
E19073	C	PP	duplikace Xp11.3p11.23	<i>KDM6A, SYN1, SLC35A2, OTUD5</i>	<i>de novo</i>	-
E21039	C	PP	duplikace 3q28q29	<i>FGF12</i>	<i>de novo</i>	-
E21042	D	PP	duplikace 15q11.2q13.1	<i>GABRA5, GABRB3</i> <i>15q11.2 mikroduplikace</i>	<i>de novo</i>	-
E21054	C	PP	del 21q22.11	<i>SON</i>	-	-
E21057	A	PP	duplikace 7q11.23	<i>STX1A</i>	-	-
E17029	C	PP	triplikace 15q11.2	<i>NIPAI, NIPAI2, CYFIP, TUBGCP5</i> <i>15q11.2 mikroduplikace</i>	<i>de novo</i>	12
E17038	C	P	delece 15q13.1q13.3	<i>CHRNA7, OTUD7A</i> <i>15q13.3 mikrodelece</i>	maternální (porucha paměti, psychiatrické poruchy)	16.3
E17041	C	P	delece 3p25.3	<i>SLC6A1, SLC6A11</i> <i>3p25.3 proximální delece</i>	<i>de novo</i>	91.1
E17049	C	P	duplikace 15q26.2	<i>STK25, D2HGDH, HDA4C</i>	<i>de novo</i>	-
E17049	C	P	delece 2q37.3	<i>2q37.3 deleční syndrom</i>	<i>de novo</i>	16
E17059	C	P	delece 14q24.2q31	<i>NRXN3, IRF2BPL</i> <i>14q24q31 deleční syndrom</i>	<i>de novo</i>	-
E18006	C	P	delece 22q13.31q13.33	<i>SHANK3</i> <i>PhelanMcDermid syndrom</i>	<i>de novo</i>	25–50
E18046	C	P	delece 15q21.3q22.31	<i>RORA, NARG2</i>	<i>de novo</i>	-
E18049	C	P	duplikace 13q33.3q34; delece 18q22.1q23	<i>18qdeleční syndrom</i>	-	-
E18051	C	P	duplikace 5p15.33p14.3; delece 8p23.1p23.3	<i>5p15 mikroduplikace,</i> <i>8p23 mikrodelece</i>	-	-
E18054	C	P	delece 17q11.2	<i>NFI</i>	maternální (epilepsie)	5.4
E18056	C	P	duplikace 17q12	<i>LHX1, ACACA</i> <i>17q12 mikroduplikace</i>	maternální	32-51
E19013	C	P	delece 16p13.11	<i>NDE1</i>	<i>de novo</i>	25–32
E19078	C	P	delece 15q11.2q13.1	<i>NIPAI, NIPAI2, CYFIP, TUBGCP5</i> <i>15q11.2 mikroduplikace</i>	<i>de novo</i>	25
E19079	C	P	delece 16p11.2	<i>PRRT2, KCTD13;</i> <i>16p11.2 mikrodelece</i>	<i>de novo</i>	21–26
E20010	B	P	delece 15q11.2	<i>NIPAI, NIPAI2, CYFIP, TUBGCP5</i> <i>15q11.2 mikroduplikace</i>	-	25
E20021	B	P	delece 22q11.21	<i>DiGeorgeregion (A-B)</i>	-	4-37
E21012	A	P	delece 16p11.2	<i>PRRT2, KCTD13</i> <i>16p11.2 mikrodelece</i>	<i>de novo</i>	21–26
E21018	C	P	delece 16p11.2	<i>PRRT2, KCTD13</i>	maternální	21–26
E21024	A	P	duplikace 2q24.3	<i>SCN rodina genů</i>	<i>de novo</i>	> 90
E21056	C	P	delece 2q24.3q31.1	<i>SCN1A</i> <i>Syndrom Dravetové</i>	-	> 90

4.2.1 CNV detekované ve skupině A

Do skupiny A bylo zařazeno 76/400 (19 %) jedinců. Minimálně jedna suspektní CNV byla detekována u 11/76 (14,5 %) pacientů. Celkem bylo nalezeno 12 klinicky potenciálně významných CNV, jejichž klasifikace a dědičnost je pro přehlednost uvedena v *Tabulce 9*. Varianty typu HFLP jsou detailně diskutovány v kapitole 4.1.

Tabulka 9: CNV detekované u pacientů ze skupiny A

VUS: varianta nejasného významu; P: patogenní; PP: pravděpodobně patogenní; HFLP: high frequency, low penetrant; „-“: neznámá dědičnost, U maternálních/paternálních CNV je v závorce uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Není-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Označení	Nález	Klasifikace	Dědičnost
E17080	arr[GRCh37]Xp22.31(6453313_8338089)x3	HFLP	paternální
E18039	arr[GRCh37]16p13.3(192245_333799)x1	VUS	-
E18100	arr[GRCh37]Xp11.23(47768698_48212614)x3	VUS	paternální (epilepsie)
E19011	arr[GRCh37]15q11.2(22765628_23300287)x1	HFLP	-
E19011	arr[GRCh37]16p13.3(6303204_6388707)x1	VUS	-
E19070	arr[GRCh37]Xp22.31(6453313_8115153)x3	HFLP	maternální
E20027	arr[GRCh37]2p22.1(39138505_39649451)x3	VUS	maternální
E21009	arr[GRCh37]17q23.2q33.3(60782964_61509875)x1	VUS	-
E21012	arr[GRCh37]16p11.2(29656684_30190568)x1	P	de novo
E21024	arr[GRCh37]2q24.3(165858033_167193292)x3	P	de novo
E21036	arr[GRCh37]Xp11.22(53559732_53622734)x2	VUS	-
E21057	arr[GRCh37]7q11.23(72401086_74133332)x3	PP	-

4.2.1.1 Patogenní a pravděpodobně patogenní CNV

Za patogenní či pravděpodobně patogenní byly označeny 3/12 (25 %) CNV, detekovaných u 3/76 (3,9 %) pacientů.

Jako patogenní byla uzavřena duplikace oblasti 2q24.3 (zasahující geny z rodiny *SCN*) a delece oblasti 16p11.2 zasahující gen *PRRT2*. V obou případech je epilepsie popisovaným fenotypovým znakem těchto CNV. Jako pravděpodobně patogenní byla uzavřena duplikace 7q11.23 vedoucí k rozvoji *Sommervil van der Aa* sy., u kterého však epilepsie nebývá běžně popisována.

4.2.1.1.1 Patogenní duplikace 2q24.3 (E21024_♂)

Jako patogenní byla označena *de novo* duplikace u chlapce s časným rozvojem nesyndromové epilepsie. Duplikace zasahuje geny z rodiny *SCN*, konkrétně gen *SCN1A* [OMIM *182389], *SCN2A* [OMIM *182390], *SCN3A* [OMIM *182391] a *SCN9A* [OMIM *603415]. Geny kódují proteiny nezbytné pro napětím řízené sodíkové kanály, které hrají

významnou roli v generování akčního potenciálu. Patogenní SNV, delece a duplikace genu *SCN2A*, jsou zodpovědné za rozvoj širokého spektra epileptických projevů od benigních neonatálních křečí po DEE. Role ostatních genů z rodiny SCN v případě, že jsou zasaženy CNV (delece/duplikace), již tak jasná není, byť u *SCN1A* a *SCN3A* nelze podíl na fenotypu vyloučit (Heron et al. 2010; Raymond et al. 2011; Okumura et al. 2011; Yoshitomi et al. 2015; Thuresson et al. 2017; Brunklaus et al. 2020; Lal et al. 2020).

4.2.1.1.2 „Double hit“ v genu *PRRT2* (E21012_♂)

Případem E21012 byl chlapec s projevy nesyndromové epilepsie od 4 měsíců věku. Molekulárně genetickým vyšetřením (sekvenováním dle Sangera) byla detekována maternální patogenní varianta v genu *PRRT2* c.649dupC (p.Arg217Profs*8). Jelikož ze získaných dat nebylo možné jednoznačně určit, zda se jedná o variantu v homozygotním či heterozygotním stavu, bylo provedeno vyšetření metodou aCGH, která detekovala *de novo* delecí oblasti 16p11.2, zahrnující i gen *PRRT2*. Chlapec je tedy složeným heterozygotem pro delecí a bodovou patogenní variantu genu *PRRT2* [OMIM *614386].

Gen *PRRT2* kóduje protein, který je nedílnou součástí neurotransmiterového systému, kde ovlivňuje exocytózu Ca^{2+} iontů v synapsích (Valente et al. 2016). Ztráta funkce vede ke zvýšení spontánní a evokované aktivity a excitability neuronů tzv. synaptopathie (Valente et al. 2016; Valtorta et al. 2016). Dle databází OMIM a OrphaNet jsou patogenní SNV a delece genu *PRRT2* známou příčinou rozvoje několika onemocnění: BFIS [OMIM #605751, ORPHA:306], hemiplegická migréna [ORPHA:569], infantilní konvulze a choreoatetóza [OMIM #602066, ORPHA:31709] a paroxysmální kinezigenní dystonie/dyskineze [OMIM #128200, ORPHA:98809].

Případy, kdy je jedinec složeným heterozygotem ve smyslu kombinace delece a patogenní SNV postihující gen *PRRT2* jsou, na rozdíl od bíalelických patogenních variant, velmi vzácné a v literatuře málo publikované. Döring et al., 2020 detekovali v souboru pacientů s BFIS dva pacienty, u kterých byla detekována delece oblasti 16p11.2 v kombinaci s patogenní bodovou variantou c.649dupC či c.836C>T. Fenotypové konsekvence však nejsou u těchto pacientů detailněji rozebrány.

Vzhledem k tomu, že patogenní varianty genu *PRRT2* podmiňují rozvoj AD onemocnění, dalo by se předpokládat, že v případě složeného heterozygota budou fenotypové projevy závažnějšího charakteru a celková prognóza bude horší. Je však nutné brát v potaz také neúplnou penetranci (47 %) a variabilní expresivitu, související

s aberacemi oblasti 16p11.2 (Rosenfeld et al. 2013). Po 7 měsících od poslední kontroly byl u chlapce pozorován pomalejší vývoj v oblasti motoriky a řeči, axiální hypotonie a přetrvávající *foramen ovale*, které by ale s nalezenou variantou nemělo souviset. Chlapec byl kompenzován na dvojkombinaci Phenaemaletten (PHE) + Convulex (Valproát, VPA), ovšem při pokusu o snížení PHE došlo k relapsu záchvatů v necelých dvou letech věku. U chlapce se navíc, v porovnání s heterozygotní ztrátou funkce, netypicky časně rozvinuly dyskineze, což může být způsobeno kompletní ztrátou funkce *PRRT2*. Vzhledem ke zvyšující se četnosti dyskinezí byl PHE postupně v léčbě nahrazen Timonilem (Carbamazepin, CBZ). Chlapec je nyní z hlediska epileptických záchvatů kompenzován na dvojkombinaci VPA + CBZ, dyskineze nevyzimely, ale jejich četnost je podstatně nižší než před nasazením CBZ. Fenotyp chlapce se prozatím kvalitativně neliší od fenotypu heterozygotů. Vzhledem k nízkému věku však nelze odhadnout dlouhodobou prognózu a chlapce je třeba nadále sledovat.

4.2.1.1.3 Mikroduplikační syndrom 7q11.23 (E21057_♀)

U pacientky E21057 byla detekována duplikace 7q11.23, zodpovědná za rozvoj 7q11.23 mikroduplikačního sy. (Sommervil van der Aa) [OMIM #609757, ORPHA:96121]. V době vyšetření klinickým genetikem byla u pacientky manifestována pouze epilepsie a nespecifická kraniofaciální dysmorfie, jejíž hodnocení bylo omezeno nepřítomností otce probandky. Další fenotypové znaky pro 7q11.23 mikroduplikační sy. nebyly pozorovány. Původ aberace nebylo možné uzavřít z důvodu chybění vzorku od otce probandky. Matka probandky danou CNV nenesla.

V rámci tohoto sy. je nejčastěji popisováno celkové vývojové opoždění, výrazné opoždění vývoje řeči, PAS, faciální dysmorfie a hypotonie (Somerville et al. 2005; Van der Aa et al. 2009; Dixit et al. 2013). Epilepsie patří mezi popisované fenotypové znaky (Torniero et al. 2007; 2008; Morris et al. 2015), nicméně bývá diagnostikována u méně než 25 % jedinců s tímto syndromem (Van der Aa et al. 2009). V současnosti není znám gen zodpovědný za rozvoj epilepsie. Předmětem zájmu by se mohl stát gen *STX1A* [OMIM *186590], který je důležitou součástí SNARE komplexu (Soluble N-ethylmaleinimide sensitive Attachment proteins Receptor), lokalizovaného v oblasti synapsí, kde je nezbytný pro proces neurotransmise (Bennett et al. 1992). Patogenní SNV genů kódujících jednotlivé proteinové složky SNARE komplexu jsou asociovány s rozvojem NVO (Tang 2021). Vzhledem k tomu, že se nejčastěji jedná o ztrátové SNV („loss of function“) a informace o

citlivosti na dávku ve smyslu triplosenzitivity u jednotlivých genů, včetně *STX1A* nejsou známe, nelze usoudit, jakou roli by v případně patogeneze hrála duplikace genu.

4.2.1.2 Varianty nejasného klinického významu

Jako VUS bylo uzavřeno 6/12 (50 %) CNV detekovaných ve skupině A. U těchto CNV byly, na základě literární rešerše, vytipovány možné potenciálně kauzální geny. Nicméně, klinická signifikance těchto aberací zůstává prozatím nejasná. CNV u pacientky E19011 je diskutována v kapitole 4.1.4.

4.2.1.2.1 Intersticiální delece 16p13.3 (E18039_♀)

Intersticiální delece oblasti 16p13.3 byla detekována u ženy s febrilními křečemi a pozitivní rodinou anamnézou pro epilepsie (její matka a dcery). Původ aberace nebylo možné uzjistit z důvodu nesouhlasu rodičů s vyšetřením. V databázi DGV lze dohledat jednu rozsahově podobnou duplikační variantu (nsv518291) a několik menších CNV.

Detekovaná delece zasahuje 9 OMIM genů (*HBZ*, *HBM*, *HBA2*, *HBA1*, *HBQ1*, *LUC7L*, *RGS11*, *ARHGDIG*, *PDIA2*). Žádný z nich není v současné době spojován s rozvojem NVO či epilepsie. Citlivost na dávku u zmíněných genů není známa. V databázi DECIPHER lze dohledat dva případy s delecí menšího rozsahu, nacházející se v daném regionu. U probanda (ID:290027) s epilepsií, poruchou chování a ID byl delecí zasažen pouze gen *LUC7L* [OMIM *607782], řadící se mezi geny kódující RNA vázající proteiny. Gen není v současné době spojován s žádným onemocněním. Ve druhém případě (ID:262493; mnohočetné VVV a celkové opoždění vývoje) byl delecí zasažen pouze gen *ARHGDIG* [OMIM *6028444]. Gen je primárně exprimován v mozku (Adra et al. 1998). Proteinový produkt genu Rho-GDP-disociační inhibitor γ patří do skupiny inhibitorů disociace GDP (guanosindifosfát), které udržují RhoGTPázy v neaktivním stavu (Wang et al. 2013). Rho signalizace ovlivňuje aktin-cytoskeletární dynamiku, která je kritická pro synaptickou plasticitu. Nicméně studie Ferland et al. 2005 ukazuje, že chybění Rho-GDP-disociační inhibitoru γ samo o sobě nevlivňuje negativně vývoj mozku, vzhledem ke kompenzaci přes Rho-GDP-disociační inhibitor α .

CNV u naší pacientky zasahuje oba výše zmíněné geny, její klinický význam ovšem zůstává nejasný vzhledem k nedostatku údajů v literatuře a nemožnosti provést segregáční analýzu.

4.2.1.2.2 **Atypická duplikace oblasti Xp11.23 (E18100_♀)**

Paternální duplikaci oblasti Xp11.23 nesla dívka s izolovanou formou epilepsie. Vyšetření panelu DEE neodhalilo žádnou suspektní SNV, která by rozvoj epilepsie vysvětlovala.

Duplikace leží v oblasti pro Xp11.22p11.23 duplikační sy., jehož fenotypovým znakem je mimo jiné i epilepsie (Giorda et al. 2009). Kauzální geny pro tento sy. však nejsou u probandky zasaženy. Proti příčinné souvislosti CNV s epilepsií u naší pacientky svědčí fakt, že v databázi DGV jsou uvedeny duplikace podobného rozsahu u zdravých jedinců. Naproti tomu v databázi DECIPHER lze dohledat několik jedinců (ID:290170, ID:251899) s epilepsií a duplikací podobného rozsahu. Duplikace u nich byla hodnocena jako VUS či jako pravděpodobně benigní. Arican et al. 2018 publikovali případ dívky s duplikací malého rozsahu, zasahující pouze geny *SSX1* [OMIM *312820], *SSX3* [OMIM *300325], *SSX4* [OMIM *300326] a *SSX9* [OMIM *600544]. U dívky byla manifestována epilepsie, ID, opožděný vývoj a mírná faciální dysmorfie. Článek diskutuje zmíněné geny jako potenciálně kauzální pro fenotyp probandky, nicméně další vyšetření pomocí metod MPS, které by mohlo odhalit jinou variantu (typu SNV) lépe vysvětlující fenotyp nebylo dle publikace provedeno.

Další studie a články na toto téma nebyly v současné době publikovány a kauzalita této aberace zůstává nejasnou.

4.2.1.2.3 **Dívka s projevy Noonanové sy., bez potvrzené genetické příčiny (E20027_♀)**

U dívky s epilepsií a fenotypovými projevy upomínající na Noonanové sy. byla nalezena duplikace oblasti 2p22.1 zasahující gen *SOS1* [OMIM *182530], jehož heterozygotní intragenové patogenní varianty jsou známou příčinou rozvoje sy. Noonanové [OMIM #610733, ORPHA:648]. U 70–85 % jedinců se sy. Noonanové nesoucích variantu v genu *SOS1* se jednalo o variantu typu „gain of function“ (Roberts et al. 2007; Tartaglia et al. 2007), což by poukazovalo na možnou kauzální roli duplikace tohoto genu. Existuje však několik důvodů, proč nelze nalezenou CNV považovat za jednoznačně kauzální. Epilepsie nepatří mezi běžně popisované fenotypové projevy u sy. Noonanové, duplikace genu nejsou označovány za kauzální příčinu sy. Noonanové. Stejná duplikační varianta byla detekována u zdravé matky a dědečka probandky, citlivost na dávku ve smyslu triplosenzitivity genu *SOS1* byla negována, v databázi DGV lze dohledat jednu rozsahově menší duplikační variantu (dgv6792n54) a v databázi DECIPHER nejsou publikovány žádné

případy s duplikací této oblasti. Nicméně další vyšetření pacientky pomocí MPS neodhalilo jinou příčinu rozvoje epilepsie. Kausalita aberace tedy zůstává nejasná. Jednou z možností je, že duplikace vysvětluje faciální fenotyp upomínající sy. Noonanové, ale nikoliv epilepsii. Proti tomuto faktu sice svědčí přítomnost duplikace u zdravých příbuzných, nicméně faciální fenotyp se s věkem vyvíjí a v dospělosti již nemusí být tolik nápadný.

4.2.1.2.4 Delece oblasti 17q23.2q23.3 (E21009_♂)

Delece oblasti 17q23.2q23.3, bez určeného rodičovského původu, byla nalezena u chlapce s fokálními motorickými záchvaty, přecházejícími do bilaterálních tonicko klonických křečí. V databázi DGV a DECIPHER nejsou popsány rozsahově identické či podobné deleční varianty. Jako potenciálně kauzální je označován gen *TANC2* [OMIM *615047]. Gen je nejvíce exprimován v mozku a jeho proteinový produkt je nezbytný pro synaptickou regulaci (Han et al. 2010; Wessel et al. 2017; Guo et al. 2019; Tassano et al. 2020). Citlivost na dávku u genu není známá. V současné době nelze kauzalitu delece potvrdit ani vyvrátit.

4.2.1.2.5 Intragenová duplikace genu *HUWE1* (E21036_♂)

Duplikace oblasti Xp11.22 zasahující 30. - 84. exon genu *HUWE1* [OMIM *300697], byla detekována u chlapce s refrakterní epilepsií. Původ CNV je neznámý z důvodu nevyšetření rodičů. Vyšetření panelu genů pro DEE neprokázalo jinou patogenní či nejasnou SNV. V databázi DGV jsou popsány rozsahově podobné duplikace. V databázi DECIPHER lze dohledat tři jedince mužského pohlaví (ID:389576; ID:278237 a ID:340356), avšak epilepsie není popisována u žádného z nich. V jednom případě (bez popsaného fenotypu) (ID:389576) byla duplikace zděděna od matky (fenotyp neuveden) a klasifikována jako VUS.

Gen *HUWE1* je spojován s rozvojem X-vázané syndromové ID [OMIM #309590, ORPHA:528084] (Froyen et al. 2008; 2012). Gen je nezbytný pro správný vývoj CNS (Zhao et al. 2008, 2009; D'Arca et al. 2010, p. 1; Giles et al. 2020). Triplosenzitivita genu nebyla prozatím potvrzena. Epilepsie ve spojitosti s patogenními SNV byly publikovány ve dvou studiích (Moortgat et al. 2018; Peng et al. 2018). Duplikace celého genu byla popsána u pacienta s křečemi (Orivoli et al. 2016). Intragenové duplikace nejsou v literatuře popsány. Kauzalitu nalezené duplikace nebylo možné potvrdit ani vyloučit. Duplikace byla uzavřena jako VUS.

4.2.2 CNV detekované ve skupině B

Ve skupině B (pacienti s izolovanou nesyndromovou epilepsií manifestovanou po 15. roce věku), čítající 37/400 (9,3 %) jedinců s epilepsií, bylo detekováno celkem 7/86 CNV u 6/37 jedinců. Klasifikace detekovaných CNV a jejich dědičnost je uvedena v *Tabulce 10*. CNV typu HFLP jsou diskutovány v kapitole 4.1. Sekundární nálezy u pacientů E17053 a E19001 nejsou vzhledem k tomu, že nemají souvislost s rozvojem epilepsie diskutovány.

Tabulka 10: CNV detekované u pacientů ze skupiny B

Šedé podbarvené řádky představují nález několika CNV u téhož pacienta. VUS: varianta nejasného významu; P: patogenní; HFLP: high frequency, low penetrant; „-“: dědičnost neznámá, U maternálních/paternálních CNV je v závorce uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Není-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Označení	Nález	Klasifikace	Dědičnost
E17051	arr[GRCh37] 2p16.3(50978466_51083469)x1	VUS	-
E17053	arr[GRCh37]Xp21.1(31638233_31875058)x1	sekundární nález	-
E18067	arr[GRCh37]15q11.2(22765628_23217514)x3	HFLP	-
E19001	arr[GRCh37]2q13(110862477_110983703)x1	sekundární nález	maternální
	arr[GRCh37] 5p15.31 (6673217_9091358)x1	VUS	paternální
E20010	arr[GRCh37]15q11.2(22765628_23300287)x1	HFLP	-
E20021	arr[GRCh37]22q11.21(18894835_20659606)x1	P	-

4.2.2.1 Patogenní CNV

Jako patogenní byla uzavřena 1/7 (14 %) CNV, detekovaná u 1/37 (2,7 %) jedinců. Jednalo se o delecii oblasti 22q11.2 podmiňující rozvoj DiGeorgova sy.

4.2.2.1.1 Epilepsie jako jediný projev pacienta s DiGeorgovým sy. (E20021_♂)

U pacienta s izolovanou formou epilepsie byla nalezena delece zasahující oblast 22q11.21 (zlomová místa A-B). Původ aberace nebyl ověřen z důvodu chybění DNA obou rodičů. Oblast je charakteristická vznikem rekurentních aberací v důsledku přítomnosti LCRs, jejichž vysoká sekvenční homologie poskytuje podmínky pro NAHR. Celkem bylo v této oblasti identifikováno 8 zlomových míst A-H (Burnside 2015). Nejtypičtější proximální delece (oblast A-B ev. A-D) jsou zodpovědné za rozvoj 22q11.21 mikrodelečního syndromu (McDonald et al. 2015). Epilepsie je manifestována u 4,4 – 36,8 % jedinců (Kao et al. 2004; Kim et al. 2007; Andrade et al. 2013; Strehlow et al. 2016; Wither et al. 2017; Eaton et al. 2019; AlKalaf et al. 2020). U pacientů jsou

popisovány převážně epilepsie spadající do skupiny GGE, včetně JME a dále fokální epilepsie (Mudigoudar et al. 2017; Strehlow et al. 2016). Na epileptogenezi se podílí také strukturální abnormality CNS (např. heterotopie, FCD), které jsou u delecí manifestovány (Mudigoudar et al. 2017; AlKalaf et al. 2020). U probanda byla diagnostikována pouze epilepsie, další fenotypové znaky související s mikrodelečním sy. 22q11.21 nebyly pozorovány. Rozvoj NVO může být podmíněn řadou genů a v současné době není kauzální gen způsobující epilepsii známý (Guna et al. 2015).

4.2.2.2 Varianty nejasného klinického významu

Jako nejasné byly uzavřeny 2/7 (29 %) CNV. Dále je diskutována pouze nejasná CNV u pacienta E19001. Druhá VUS je diskutována v kapitole 4.1.5.

4.2.2.2.1 Delece oblasti 5p15.31 (E19001_♀)

Delece 5p15.31 byla nalezena u pacientky s JME. Varianta byla zděděna od otce bez projevů epilepsie. V databázích nejsou uvedeny podobné 5p15.31 deleční varianty. Liu et al., 2015 publikovali studii, zabývající se objasněním genetických příčin vedoucích k rozvoji benigní familiární myoklonické epilepsie u dospělých (BAFME). U devíti příbuzných z vyšetřované rodiny byla vazebnou analýzou prokázána spojitost onemocnění s chromozomovou oblastí 5p15.31p15. Ke stejným závěrům došly také studie Depienne et al., 2010 a Li et al., 2014. Předpokládá se, že kauzální gen(y) pro rozvoj BAFME, by mohly být lokalizovány v oblasti 5p15.3p15. Jako potenciálně kauzální se jeví gen *SEMA5A* [OMIM *609297], nezbytný pro normální axonální vedení během neurálního vývoje (Adams et al. 1996). Citlivost na dávku není u genu známa.

Nedostatek důkazů a paternální původ aberace kauzalitu spíše nepodporují, stále se však může jednat o rizikový faktor pro rozvoj epilepsie v polygenním modelu dědičnosti. U pacientky byl navíc detekován sekundární nález – heterozygotní delece oblasti 2q13, podmiňující rozvoj AR onemocnění – Joubertův a Seniorův-Lokenův sy. [ORPHA:2318], u něhož není epilepsie popisována.

4.2.3 CNV detekované ve skupině C

Skupina C zahrnovala celkem 249/400 (62,3 %) jedinců. U 50/249 (20,1 %) z nich bylo detekováno 57/86 CNV. Ve většině případů se jednalo o prostou duplikaci či delecii. U 5/50 (10 %) jedinců byly detekovány ≥ 2 varianty. U dvou z nich (E17049, E18049) se jednalo o nebalancovanou translokaci a v jednom případě (E18051) o komplexní chromozomovou přestavbu typu inv dup del. Zbylé dva případy (E19013, E21003) představovaly prostý nález několika CNV bez souvislosti s komplexnější chromozomovou přestavbou. Klasifikace a dědičnost nalezených CNV je uvedena v *Tabulce 11*. Příčina rozvoje epilepsie byla jednoznačně objasněna u 24/249 (9,6 %) pacientů (patogenní a pravděpodobně patogenní varianty).

Tabulka 11: CNV detekované u pacientů ze skupiny C

Šedé podbarvené řádky představují nález několika CNV u téhož pacienta VUS: varianta nejasného významu; P: patogenní; PP: pravděpodobně patogenní; B: benigní; HFLP: high frequency, low penetrant; „-“: dědičnost neznámá, U maternálních/paternálních CNV je uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Není-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Označení	Nález	Klasifikace	Dědičnost
E16008	arr[GRCh37] 22q11.21(18894835_21505417)x3	PP	paternální
E16021	arr[GRCh37] 9q34.11q34.3(131372449_139593307)x3	PP	de novo
E17008	arr[GRCh37] 16p11.2(29673954_30190568)x3	PP	paternální
E17014	arr[GRCh37] 17p13.3(1288515_1492475)x3	VUS	maternální
E17029	arr[GRCh37] 15q11.2(22765628_23300287)x4	PP	de novo
E17033	arr[GRCh37] 3p26.3(1183406_1237776)x1	VUS	maternální
E17038	arr[GRCh37] 15q13.1q13.3(29085844_32861626)x1	P	maternální (porucha paměti, psychiatrické poruchy)
E17041	arr[GRCh37] 3p25.3(10713577_11207135)x1	P	de novo
E17048	arr[GRCh37] 13q34(110817443_111034539)x1	VUS	paternální (pozitivní RA pro epilepsii ze strany otce, otec bez projevu epilepsie)
E17049	arr[GRCh37] 15q26.2q26.3(97649828_102461201)x3 [0,365]	P	de novo
	arr[GRCh37] 2q37.3(241522903_243068396)x1 [0,365]	P	de novo
E17056	arr[GRCh37] 16p13.3(7211062_7226773)x1	VUS	paternální
E17059	arr[GRCh37] 14q24.2q31.1(73024287_80139400)x1	P	de novo
E17060	arr[GRCh37] Xp22.31(6705268_7828224)x0	VUS	-
E17079	arr[GRCh37] 15q11.2(22765628_23300287)x1	HFLP	-
E18006	arr[GRCh37] 22q13.31q13.33(44526693_51193680)x1	P	de novo
E18007	arr[GRCh37] 2p25.3(1630315_1848126)x3	VUS	paternální
E18031	arr[GRCh37] 2p16.3(49570941_50243403)x1	PP	de novo
E18043	arr[GRCh37] Xp22.31(8503131_8720758)x3	sekundární nález	-

Označení	Nález	Klasifikace	Dědičnost
E18046	arr[GRCh37] 15q21.3q22.31(55530533_65966228)x1	PP	<i>de novo</i>
E18049	arr[GRCh37] 13q33.3q34(107128569_115092648)x3	P	-
	arr[GRCh37] 18q22.1q23(64984407_78012829)x1	P	-
E18051	arr[GRCh37] 5p15.33p14.3(22149_22861340)x3,	P	-
	arr[GRCh37] 8p23.3p23.1(191530_6880363)x1	P	-
	arr[GRCh37] 8p23.1p22(12467484_13745740)x3	VUS	-
E18054	arr[GRCh37] 17q11.2(29470635_29483165)x1	P	maternální (epilepsie)
E18056	arr[GRCh37] 17q12(34817418_36248918)x3	P	maternální
E18058	arr[GRCh37] 17p11.2q11.2(19143173_27464476)x3[0,3-0,4]	VUS	<i>de novo</i>
E18090	arr[GRCh37] 15q11.2(22765628_23217514)x3	HFLP	-
E19013	arr[GRCh37]Xp22.31(6453313_8115153)x2	HFLP	<i>de novo</i>
	arr[GRCh37] 16p13.11(15492307_16292235)x1	P	<i>de novo</i>
E19018	arr[GRCh37] 22q11.22q11.23(23002709_23654222)x1	VUS	maternální
E19033	arr[GRCh37] 16p13.11p12.3(15397403_18779801)x3	PP	-
E19034	GRCh37] 17q25.1(71847837_72648056)x3	VUS	-
E19066	arr[GRCh37] 16p12.2(21806319_22448221)x3, (X)x3	VUS	maternální
E19073	arr[GRCh37] Xp11.3p11.23(44357870_48795344)x3	PP	<i>de novo</i>
E19077	arr[GRCh37] 2p22.2(37310444_38579653)x3	VUS	-
E19078	arr[GRCh37] 15q11.2q13.1(23668011_28559402)x1	P	<i>de novo</i>
E19079	arr[GRCh37] 16p11.2(29673954_30190568)x1	P	<i>de novo</i>
E20002	arr[GRCh37] 6q16.3(105078815_105317154)x3	VUS	paternální (fenotyp není znám)
E20031	arr[GRCh37] 11p13(31038496_31584388)x1	VUS	paternální
E20039	arr[GRCh37] 1q23.3(161322923_161501835)x1	VUS	-
E20041	arr[GRCh37] 2q22.1(138362815_138933801)x3	VUS	-
E21001	arr[GRCh37] 7q11.22(69053750_69433076)x3	VUS	paternální
E21003	arr[GRCh37] 2p16.3(50892847_50957514)x1	VUS	paternální
	arr[GRCh37] 11p11.2(46477241_46813501)x3	VUS	maternální
	arr[GRCh37] Xp22.31(6488721_8097511)x2	HFLP	maternální
E21006	arr[GRCh37] 2p16.3(50909765_50947729)x1	VUS	maternální
E21013	arr[GRCh37] 16p13.3(6998726_7046219)x3	VUS	paternální
E21018	arr[GRCh37] 16p11.2(29592783_30190568)x1	P	maternální
E21027	arr[GRCh37] 18q22.1(65268151_66697547)x3)	VUS	-
E21039	arr[GRCh37] 3q28q29(191931840_192454675)x3	PP	<i>de novo</i>
E21040	arr[GRCh37] Xp22.33(375903_600393)x3	sekundární nález	-
E21041	arr[GRCh37] 10q23.1(84068698_84587517)x1	VUS	-
E21054	arr[GRCh37] 21q22.11(34878067_35060092)x1	PP	-
E21056	arr[GRCh37] 2q24.3q31.1(166398623_169740919)x1	P	-
E21063	arr[GRCh37] 16p13.2(8771060_8895859)x3	VUS	maternální

4.2.3.1 Patogenní a pravděpodobně patogenní CNV

Jako patogenní či pravděpodobně patogenní bylo označeno 27/57 (47,4 %) CNV, detekovaných u 24/249 (9,6 %) jedinců. Ve všech případech patřila epilepsie mezi popisované fenotypové projevy související s daným nálezem. V této kapitole budou detailněji diskutovány CNV označené jako pravděpodobně patogenní, tři patogenní varianty a dva případy komplexní chromozomové přestavby. Patogenní CNV jasně kauzální pro rozvoj epilepsie jsou shrnuty v *Tabulce 12* a nebudou dále diskutovány.

Tabulka 12: Patogenní CNV ve skupině C

Pacient	CNV	Syndrom, kauzální gen(y)	Penetrance epilepsie
E17038	delece 15q13.1q13.3	15q13.3 mikroleční sy. [ORPHA:199318]	16,3 %
E17041	delece 3p25.3	3p25.3 proximální delece. (<i>SLC6A1</i> , <i>SLC6A11</i>) Myotonická-atonická epilepsie [ORPHA:1942]	91,1 %
E17059	delece 14q24.2q31	14q24.2q31.1 mikrolece (<i>NRXN3</i>)	-
E18006	delece 22q13.31q13.33	Phelan McDermid sy. [ORPHA:48652]	25–50 %
E18049	duplikace 13q33q34	-	-
	delece 18q22.1q23	18q deleční sy.	10-31 %
E18054	delece 17q11.2	Neurofibromatóza typu 1 [ORPHA:636]	5,4 %
E19013	delece 16p13.11	16p13.11 mikrolece (<i>NDE1</i>)	25-32 %
	duplikace Xp22.31	(„second-hit“), HFLP	-
E19078	delece 15q11.2q13.1	Angelmanův sy. [ORPHA:98794] (<i>GABRB3</i> , <i>GABRG3</i> , <i>GABRA5</i> , <i>UBE3A</i>)	90 %
E21056	delece 2q24.3q31.1	Dravetové sy. [ORPHA:98794]	> 90 %

4.2.3.1.1 Duplikace oblasti 17q12 a její segregace v rodině (E18056_♂)

Jako patogenní byla označena duplikace oblasti 17q12 u pacienta E18056 (Zunova et al. 2022) (Příloha 1.)

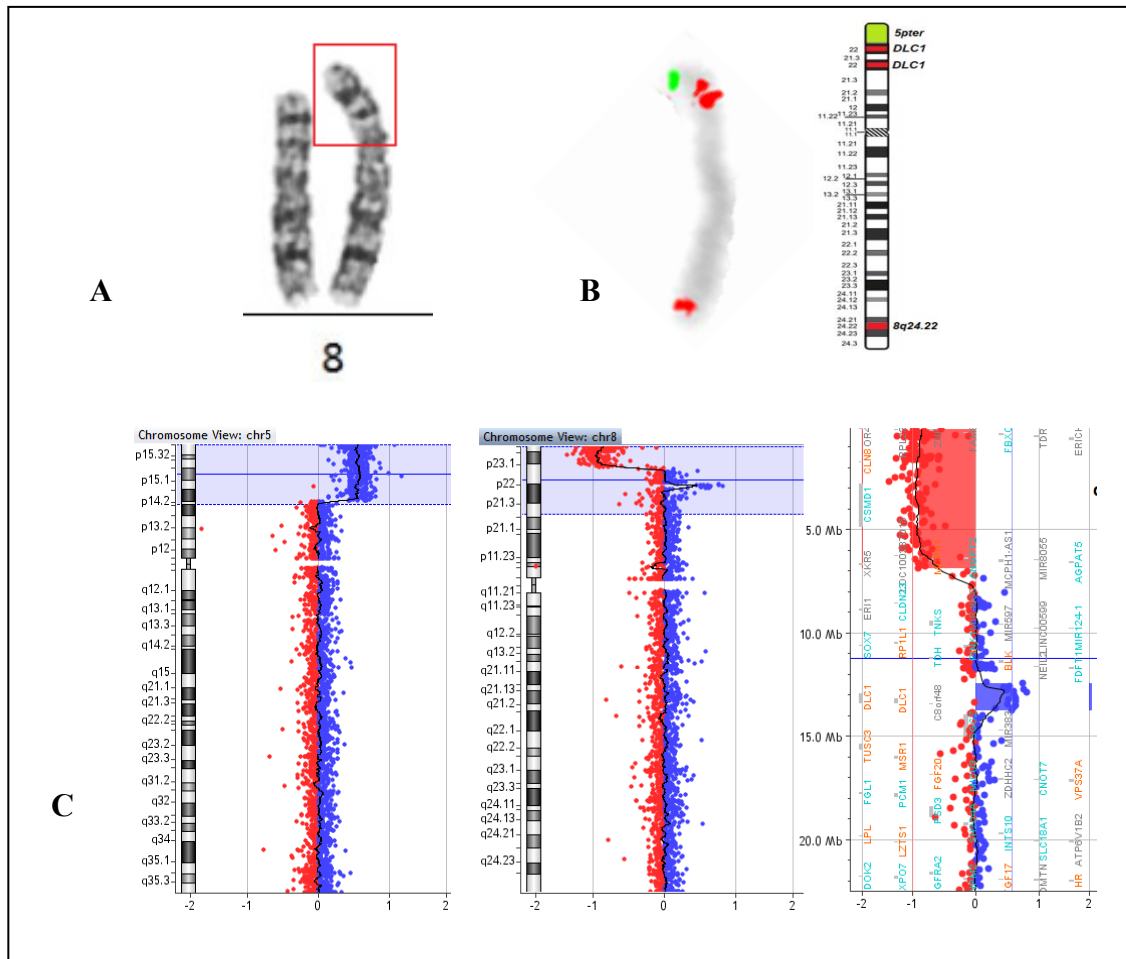
4.2.3.1.2 Komplexní chromozomová přestavba typu inv dup del (E18051_♂)

Proband se dostavil do genetické ambulance ve věku 36 let. Kromě epilepsie bylo ve fenotypu pozorováno vývojové opoždění, strabismus, těžká ID a spastická kvadruparéza. Vyšetření karyotypu probanda prokázalo přítomnost derivovaného chromozomu 8 (*Obrázek 21-A*). U matky byl zjištěn normální karyotyp, vzorek otce nebyl k dispozici. Pro objasnění konstituce der(8) bylo doplněno vyšetření metodou aCGH. Byla detekována terminální delece oblasti 8p23.3p23.1 a terminální duplikace 5p15.33 (*Obrázek 21-C*). Tento nález byl charakteristickým projevem nebalancované translokace a vysvětloval by přítomnost

nadbytečného materiálu na chromozomu 8. Na chromozomu 8 však byla navíc detekována duplikace, zasahující gen *DLC1* [OMIM *604258], ve vzdálenost cca 5,5 Mb od deletovaného regionu. Nález delecí a duplikace krátkého raménka (*p*) by mohl odpovídat chromozomové přestavbě typu inv dup del 8p. Pro ověření této teorie bylo provedeno vyšetření metodou FISH, které potvrdilo translokaci terminální části 5p na chromozom 8p a dále duplikaci oblasti 8p23.1p22 s genem *DLC1* (Obrázek 21-B). Vzhledem k tomu, že signály pro gen *DLC1* byly viditelně odděleny a nedošlo pouze ke zdvojnásobení signálu, hypotéza o inv dup del byla potvrzena.

Derivovaný chromozom 8 vzniká během procesu NAHR mezi proximálním a distálním LCR u jednoho z rodičů během crossing-overu. Výsledkem je vznik acentrického fragmentu, který je zpravidla degradován, a nestabilního dicentrického chromozomu. Dicentrický chromozom je během následného buněčného dělení zlomen a dává vzniknout derivovanému chromozomu s inv dup del a derivovanému chromozomu s terminální delecí 8p, kdy každý segreguje do jedné z gamet (Zuffardi et al. 2009). Ztráta telomerické oblasti 8pter, pro stabilitu chromozomu nezbytná, byla kompenzována mechanismem tzv. „telomere-capture“. Při tomto ději dochází k „získání“ telomerické oblasti z homologního, případně nehomologního chromozomu (Meltzer et al. 1993). V našem případě se „dárce“ stala subtelomerická sekvence oblasti 5p.

Spojitosť nalezenej komplexnej chromozomovej aberace s rozvojem epilepsie je s největší pravděpodobností asociována s delecí 8p23.3p23.1, označované jako 8p23.1 deleční sy. [ORPHA:251071]. U sy. je ve fenotypu popisováno mírné opoždění PMV, poruchy učení, srdeční vady a v menší míře také epilepsie (“Disorder Guides”, UNIQUE n.d.). Epilepsie v souvislosti s nalezenou delecí oblasti 8p23.1p23.3 byla publikována několika autory (Nucaro et al. 2011; Naseer et al. 2016; Borlot et al. 2017; Akcakaya et al. 2017; Kessi et al. 2018). Jako potenciálně kauzální označují autoři gen *CSMD1* [OMIM *608397] (Nucaro et al. 2011; Kessi et al. 2018), nicméně citlivost na dávku ve smyslu haploinsuficience není dle *Clin Gen dosage sensitivity map* potvrzena. Nami detekovaná duplikace 5p15.33 a duplikace 8p23.1p22 (gen *DLC1*) není v literatuře v současné době spojována s rozvojem epilepsie.



Obrázek 21: Výsledky vyšetření u pacienta E18051

(A – chromozom 8 s nadbytečným genetickým materiálem; B – výsledek vyšetření metodou FISH pomocí subtelomerické sondy 5pter (zelená). Lokus specifické sondy pro gen *DLC1* (červená) a lokus specifické sondy pro oblast 8q24.22, C – výsledek vyšetření metodou aCGH – vpravo duplikace 5p; uprostřed delecce 8q a duplikace 8p23.1p22, vlevo detailnější zobrazení nálezu delecce 8q a duplikace 8p23.1p22 s genem *DLC1*)

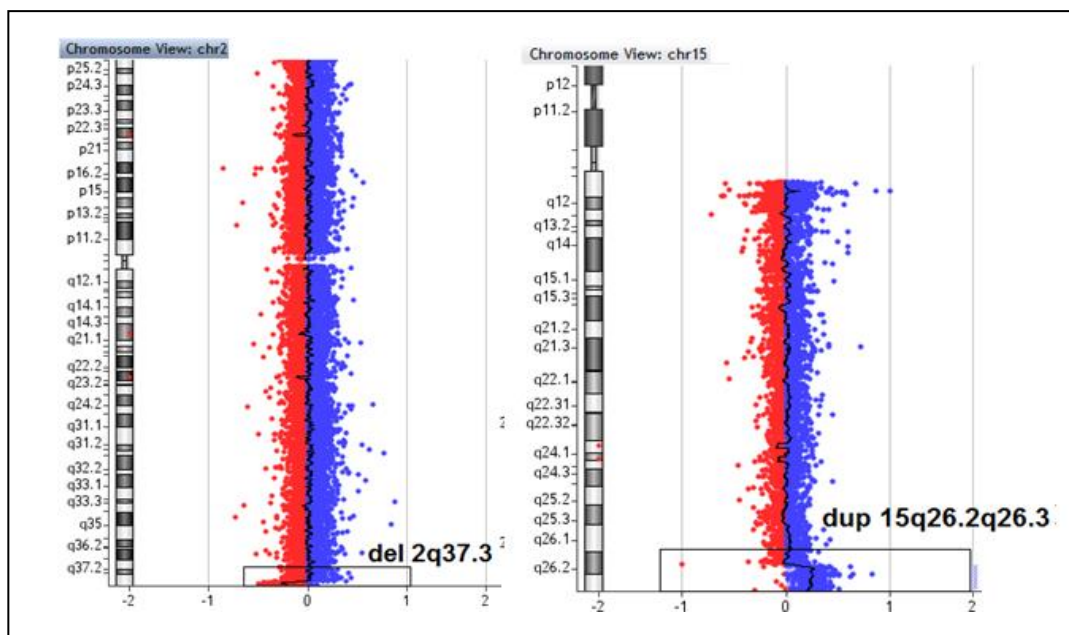
4.2.3.1.3 Nebalancovaná translokace ve 30 % mozaice (E17049 ♂)

U pacienta E17049 bylo indikováno vyšetření metodou aCGH pro ověření rozsahu a genového obsahu, oblastí zasažených *de novo* nebalancovanou translokací 46,XY,der(2)t(2;15) zjištěnou G-pruhováním. Translokace, zahrnující delecí chromozomové oblasti 2qter a duplikaci oblasti 15q26.2q26.3, byla v periferní krvi detekována ve 30% mozaice. Metodou aCGH byl určen detailnější rozsah aberace (Obrázek 22) a stupeň mozaicizmu (36 %). Následně bylo opakováno vyšetření FISH z buněk bukalního stěru, kde byla translokace detekována v 27 % buněk (Obrázek 23).

Jako kauzální pro rozvoj epilepsie byla v tomto případě označena delecce oblasti 2q37.3, zasahující do oblasti 2q37.3 delecčního syndromu [OMIM #600430, ORPHA:1001]. Syndrom je charakterizován NVO včetně epilepsie. Minimální kritický region představuje

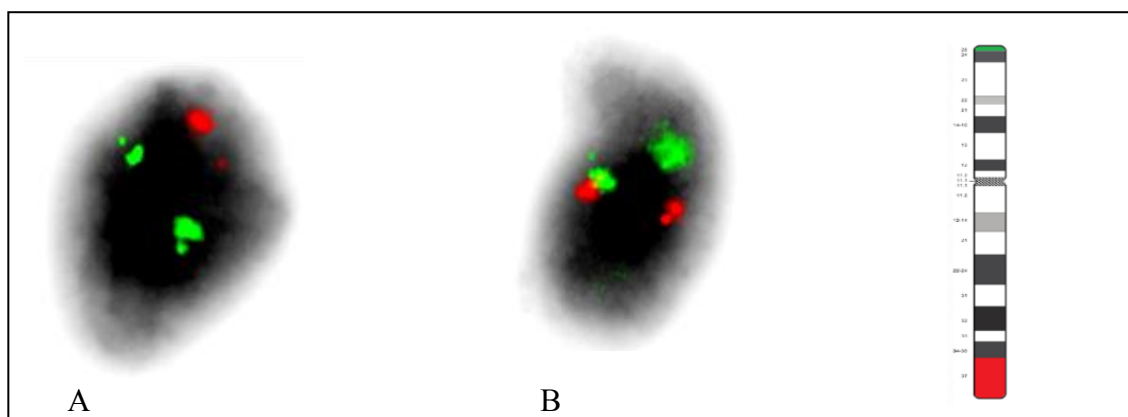
oblast o velikosti 496 kb, zasahující geny *THAP4* [OMIM *612533], *ATG4B* [OMIM *611338], *PPP1R7* [OMIM *602877] a *STK25* [OMIM *602255]. Geny jsou ve větší míře exprimovány ve vyvíjejících se neuronech (Imitola et al. 2015). Další studie potvrzují roli genu *STK25* v CNS (regulace dendritogeneze a neurální polarizace skrze signální dráhu Reelin/Dab1) (Matsuki et al. 2010; 2012; Matsuki et al. 2013). Za kauzální pro rozvoj epilepsie jsou považovány také geny *HDAC4* [OMIM *605314] (Chaabouni et al. 2006; Williams et al. 2010a; Le et al. 2019) a *D2HGDH* [OMIM *609186] (Williams et al. 2010b). Ve skupině 103 jedinců s geneticky potvrzeným 2q37 delečním syndromem, byla epilepsie pozorována u 16 % jedinců (Le et al. 2019).

Vyšetření metodami MPS (panel DEE a WES) neprokázalo jinou příčinu rozvoje epilepsie u probanda. Detekovaná nebalancovaná translokace zůstává i přes její 30% mozaiku jedinou prokázanou příčinou rozvoje epilepsie a z tohoto důvodu byla uzavřena jako patogenní.



Obrázek 22: Výsledek vyšetření metodou aCGH u pacienta E17049

V levé části obrázku patrná delecce subtelomerické oblasti 2q37.3, charakteristická propadem linie v úrovni hodnoty 0, směrem k negativním hodnotám, v pravé části subtelomerická duplikace 15q26.2.26.3, charakteristická vychýlením linie z hodnoty 0 ke kladným hodnotám.



Obrázek 23: Vyšetření buněk bukalního stěru metodou FISH s použitím sond pro oblast 2pter a 2qter

(A – jádro s delecí oblasti 2qter – chybějící červený signál, B – normální jádro zastoupené dvěma normálními chromozomy 2; dva červené signály pro subtelomerickou oblast 2qter a dva zelené signály pro subtelomerickou oblast 2pter).

4.2.3.1.4 Zhu-Tokita-Takenouchi-Kim syndrom (E21054_♂)

Intersticiální delece oblasti 21q22.11 byla detekována u probanda s opožděným PMV, axiální hypotonií, epilepsií a nespecifickou faciální dysmorfii, zahrnující pouze široký kořen nosu.

Delece zasahuje gen *SON* [OMIM *182465], jehož SNV typu „loss of function“ jsou příčinou rozvoje ZTTK sy. (Zhu-Tokita-Takenouchi-Kim sy.) [OMIM #617140, ORPHA:500150] (Kim et al., 2016; Takenouchi et al., 2016; Tokita et al., 2016; X. Zhu et al., 2015). Primární příčinou je porucha RNA sestřihu dalších genů, mediovaného proteinovým produktem genu *SON* (Kim et al. 2016). Mezi typické obtíže patří ID, epilepsie, abnormality CNS, faciální dysmorfie a další VVV (Kushary et al. 2021). Delece nejsou u ZTTK sy. běžně popisovány. Knockout genu *SON* u modelových organismů vedl k malformacím míchy, mozku a očí (Kim et al. 2016). U jedinců s variantami typu „loss of function“ byla epilepsie diagnostikována v 55 % případů. (Kim et al. 2016). V databázi DGV nejsou popisovány deleční varianty tohoto rozsahu zasahující gen *SON*.

Fenotyp probanda v době vyšetření (11 měsíců), s výjimkou faciální dysmorfie, koreloval s nálezem tohoto CNV. Z hlediska kranio-faciální dysmorfie byl u probanda popsán pouze široký kořen nosu a níže posazené ušní boltce. Je však možné, že faciální fenotyp se bude s věkem vyvíjet. Nicméně korelace fenotypu probanda s publikovanými případy jedinců se ZTTK sy. vedla k prozatímní klasifikaci varianty jako pravděpodobně patogenní. Limitem je v tomto případě chybějící segreganční analýza, jejíž výsledek může vést k reklasifikaci varianty.

4.2.3.1.5 Intragenová *de novo* duplikace genu *FGF12* (E21039_♀)

Intragenová *de novo* duplikace v oblasti 3q28q29 zasahující 1. - 3. exon genu *FGF12* [OMIM *601513, NM_004113.6] byla detekovaná u pacientky s diagnostikovanou farmakorezistentní epilepsií s fokálními křečemi, přecházejícími do bilaterálních tonicko-klonických křečí (typ. FBTCS), a dále s projevy ADHD, lehké ID a hypermetropie. Patogenní SNV („gain of function“; „missense“) a duplikace (parciální i celogenové) tohoto genu byly publikovány několika autory (Al-Mehmadi et al. 2016; Siekierska et al. 2016; Shi et al. 2017; Verheyen et al. 2020; Willemsen et al. 2020; Seiffert et al. 2022). Mechanismus působení spočívá v modulaci inaktivace sodíkového kanálu, respektive podjednotky Nav1.6 (gen *SCN8A*) a Nav1.2 (gen *SCN2A*) prostřednictvím bílkovinného produktu genu *FGF12*. V případě duplikací genu *FGF12* dochází ke ztrátě funkce sodíkového kanálu, zatímco missense varianty vedly ke „gain of function“ efektu (Seiffert et al. 2022). Ačkoli funkční dopad duplikací a missense SNV na sodíkový kanál je opačný, fenotypový projev se značně překrývá s jediným rozdílem, kterým je věk nástupu a tíže epilepsie. Lékem první volby pro kompenzaci záchvatů se jeví fenytoin, který ve studiích vykazoval největší účinnost (Trivisano et al. 2020; Seiffert et al. 2022). Tento fakt potvrzuje také naše pacientka, u které byl fenytoin účinný, ale jeho nedostatečné dávky vedly k dekompenzaci záchvatů.

Vyšetření pomocí WES neprokázalo jinou příčinu rozvoje epilepsie. Na základě těchto informací, korelaci fenotypu probandky s genotypem a diskutované souvislosti aberací genu *FGF12* s rozvojem epilepsie, byla tato intragenová duplikace uzavřena jako pravděpodobně patogenní.

4.2.3.1.6 Pravděpodobně patogenní delece 15q21.3q22.31 (E18046_♂)

Intersticiální *de novo* delece oblasti 15q21.3q22.31 o velikosti 10,5 Mb byla detekována u chlapce s opožděným PMV, nálezem na MRI, epilepsií, výraznou poruchou řeči, strabismem a faciální dysmorfii.

V databázi DGV nejsou popsány identické ani podobné deleční varianty. Delece zasahuje celkem 67 OMIM genů. Jako potenciálně kauzální pro rozvoj epilepsie se jeví gen *RORA* [OMIM *600825], jehož patogenní SNV jsou zodpovědné za rozvoj AD ID s/bez epilepsie a cerebelární ataxie [OMIM #618060, ORPHA: nepřidělen] (Guissart et al. 2018). „*DECIPHER haploinsufficiency index*“ je 0,78 % což naznačuje náchylnost k haploinsuficienci (hodnoty < 10 % predikují větší náchylnost k haploinsuficienci). Potenciální kauzalitu genu *RORA* ve vztahu k epilepsii naznačuje také publikace Yamamoto et al. 2014, která popisuje 5 jedinců s delecemi v oblasti 15q21.3q22.2. U tří pacientů byla

manifestována epilepsie. Jeden z pacientů byl nosičem rozsahově malé delecí zasahující mimo jiné také gen *RORA*.

Ačkoli z hlediska epilepsie není kauzalita delecí 15q21.3q22.31 jasně prokázána, předpokládáme, že vzhledem k rozsahu aberace, vzniku *de novo*, negativními výskytu CNV v databázi DGV a korelaci fenotypu probanda s onemocněním způsobeným patogenními SNV genu *RORA*, je kauzalita pravděpodobná.

4.2.3.1.7 Atypická duplikace 9q34.11q34.3 (E16021_♂)

De novo duplikace oblasti 9q34.11q34.3 byla nalezena u chlapce s epilepsií, výrazným regreseem ve vývoji řeči a PAS.

Duplikace postihuje 282 genů, ovšem nezasahuje žádný v odborné literatuře diskutovaný potenciálně kauzální gen pro epilepsie, tedy geny *EHMT1*, *CACNA1B*, *GRIN1* (Bonati et al. 2019) či *STXBPI* (Abramov et al. 2020). Jako potenciálně kauzální geny zasažené duplikací u našeho pacienta se tedy jeví *KCNT1* [OMIM *608167] (Heron et al. 2012; Barcia et al. 2012; Ishii et al. 2013; Vanderver et al. 2014; Rim et al. 2018) a *SPTAN1* [OMIM *182810] (Saito et al. 2010; Nonoda et al. 2013; Tohyama et al. 2015), jejichž SNV jsou označovány jako příčina rozvoje AD DEE.

Vyšetření panelu DEE neprokázalo jinou příčinu rozvoje epilepsie. Vzhledem k tomu, že duplikace leží částečně v oblasti kauzální pro rozvoj 9q34 duplikačního syndromu, je *de novo* původu a zasahuje velké množství genů spojených s rozvojem NVO, předpokládáme, že by se mohlo jednat o pravděpodobnou příčinu obtíží u probanda.

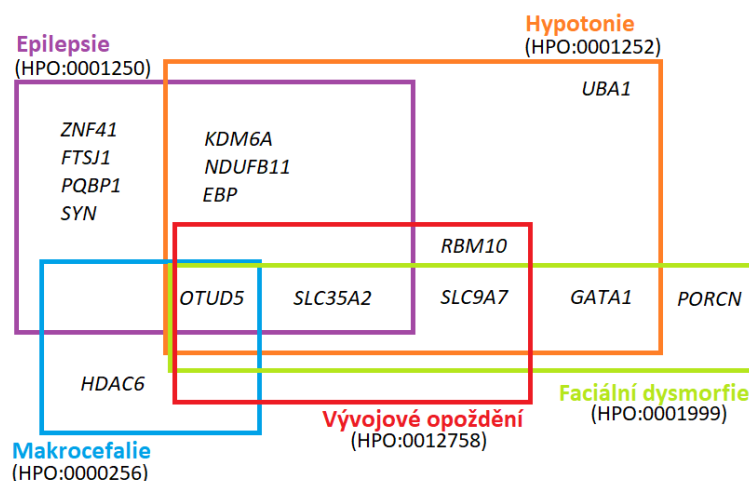
4.2.3.1.8 Duplikace oblasti Xp11.3 (E19073_♀)

De novo duplikace o velikosti 4,4 Mb byla prokázána u dívky s opožděným PMV, epilepsií, hypotonií, hyporeflexií, makrocefalií, faciální dysmorfii a podezřením na atrofii mozku na MRI.

Duplikace zasahovala 7 genů asociovaných s X-vázanými dominantními onemocněními (XLD, X-linked dominant). Epilepsie je zmiňována u tří z nich: *KDM6A* [OMIM *300128, Kabuki syndrom 2]; *SYN1* [OMIM *313440, X-vázaná epilepsie s poruchami učení a poruchami chování] a *SLC35A2* [OMIM *314375, Vrozená porucha glykosilace, typ II m]. V databázi DGV nejsou popsány duplikační varianty podobného rozsahu. V databázi ClinVar lze dohledat tři případy (nssv1608222, nssv584494, nssv1415060) u nichž jsou popisovány obdobné fenotypové znaky (epilepsie, makrocefalie, opožděný PMV, abnormality CNS) jako u naší probanky.

Při použití standardizované terminologie pro popis fenotypu tzv. HPO (Human Phenotype Ontology) termínů, které odpovídaly fenotypu probandky (HPO:0001250, 0001252, 0001999, 0012758, 0000256) bylo programem GENA postupně vytipováno několik genů, jejichž aberace vedou k vyjádření daného znaku. Nejprve byly vytipovány geny pro jednotlivé HPO termíny zvláště a následně pro kombinace jednotlivých znaků. Všechny fenotypové znaky lze pozorovat u patogenních SNV genu *OTUD5* [OMIM *300713] (Obrázek 24), které jsou příčinou rozvoje X-vázaného recesivního onemocnění (XLR, X-linked recessive) „*Multiple congenital anomalies-neurodevelopmental syndrome*“ [OMIM #301056, ORPHA:528084] (Saida et al. 2021). Cho et al. 2021 označili gen za součást mTOR signální dráhy, která je nezbytná pro správný vývoj a funkci CNS (Bockaert et al. 2015). Nicméně to, že aberace genu je zodpovědná za XLR onemocnění, a fakt, že duplikace nevede k disrupci genu, případnou kauzalitu genu nepodporují. U probandky bylo provedeno vyšetření metodou WES, které nepotvrdilo přítomnost patogenní SNV v genu *OTUD5* na druhé alele ani žádnou jinou patogenní variantu. Stejně jako u případu (E18100) je duplikací zasažena oblast genů *SSX*, diskutovaných u případu E18100 (kapitola 4.2.1.2.2).

Vzhledem k rozsahu aberace, korelace fenotypu probandky s dalšími publikovanými případy, nepřítomností této CNV v databázi DGV a negativnímu výsledku WES, které neprokázalo jinou příčinu obtíží u probandky se domníváme, že detekovaná CNV je pravděpodobnou příčinou obtíží u probandky.



Obrázek 24: Geny z duplikovaného regionu, jejichž aberace vedou k rozvoji epilepsie, hypotonie, makrocefalie, vývojového opožďení a faciální dysmorfie.

Barevné obdelníky ohraničují geny, jejichž aberace vedou k rozvoji určitého fenotypu znaku, který je uveden ve stejném barevném provedení jako ohraničující obdelník.

4.2.3.1.9 Rekurentní duplikace 22q11.2 (E16008_♂)

Rekurentní paternální duplikace oblasti 22q11.2 byla detekována u chlapce s epilepsií, lehce opožděným vývojem, agresivitou a nespecifickou faciální dysmorfii. Jedná se o typickou rekurentní duplikaci mezi zlomovými místy LCR-A/LCR-D. Fenotypové projevy duplikací jsou značně heterogenní, je však popisováno vývojové opoždění, hypotonie, ID, faciální dysmorfie či srdeční vady. Aberace je často děděna od nepostiženého rodiče. V databázi DGV jsou taktéž popsány duplikační varianty. Pro tuto oblast je charakteristická neúplná penetrance a variabilní expresivita. Duplikace této oblasti byla již v minulosti spojována s epilepsií (Ensenauer et al. 2003; Piccione et al. 2011; Tan et al. 2011; Valvo et al. 2012). Sekvenováním panelu DEE nebyla jiná příčina epilepsie u probanda zjištěna.

Na základě informací z literatury lze soudit, že detekovaná varianta by mohla souviset s rozvojem epilepsie u probanda (E16008), prozatím však existuje málo důkazů potvrzujících jasnou kauzalitu.

4.2.3.2 Varianty nejasného klinického významu

Většina CNV klasifikovaných jako VUS byla zděděna od rodiče, který epilepsií dle našich informací netrpěl. Pro tento fenomén existuje několik vysvětlení. Je možné, že detekované CNV představují vzácné benigní familiární polymorfizmy, které jsou děděny v rámci několika generací a nejsou primární příčinou rozvoje epilepsie. Dále mohou některé CNV představovat rizikový faktor, který v kombinaci s dalšími jak genetickými, tak negenetickými faktory může vést k rozvoji epilepsie. V současné době však u níže uvedených variant není dostatek informací potřebných k tomu, aby mohly být spolehlivě zařazeny buď mezi polymorfizmy nebo mezi rizikové faktory. U části níže uvedených případů byly provedeny i další celogenomové analýzy, které jsou u jednotlivých případů zmíněny. U většiny těchto případů zůstává nalezená CNV jedinou suspektní genomovou variantou.

4.2.3.2.1 Delece 1q23.3 (E20039_♂)

Výše zmíněná delece s neznámým rodičovským původem byla prokázána u chlapce s molekulárně geneticky potvrzenou hypochondroplázií (patogenní SNV v genu *FGFR3*) a dalšími fenotypovými znaky nesouvisejícími s tímto onemocněním, jako je epilepsie, porucha řeči, pervazivní vývojová porucha, ID, opožděný PMV či opožděná myelinizace mozku.

Delece podobného rozsahu nejsou v dostupných databázích popsány. Delece zasahuje čtyři OMIM geny (*SDHC*, *DFAP12G*, *FCGR2A*, *HSPA6*), jejichž spojitost s rozvojem NVO či jiných geneticky podmíněných onemocnění není prozatím popisována. Haploinsuficience genu *SDHC* byla popsána pouze u feochromocytomu a paragangliomu.

Vzhledem k nemožnosti ověřit rodičovský původ zůstává tato delece klasifikována jako VUS.

4.2.3.2.2 Duplikace 2p22.2 (E19077_♂)

Duplikace 2p22.2 byla nalezena u chlapce s komplexním postižením zahrnujícím epilepsii, opožděný PMV, hypotonii, mikrocefalii a faciální dysmorfii. Původ aberace u našeho pacienta nebylo možné uzavřít z důvodu nevyšetření otce probanda, jehož DNA není k dispozici; u matky pacienta CNV prokázána nebyla. Vyšetřením panelu DEE nebyla zjištěna žádná další suspektní genomová varianta.

CNV o velikosti 1,27 Mb zasahovala několik desítek genů. Epilepsie jako fenotypový projev je popisována u patogenních SNV v genu *EIF2AK2* [OMIM *176871], jež vedou k rozvoji AD LEUDEN sy. (LEUkoencephalopathy, Developmental delay, and Episodic Neurologic regression syndrome)[OMIM #618877, ORPHA: není přidělen]. Kauzální jsou v tomto případě ztrátové („loss of function“) patogenní varianty, nikoli duplikace. Zhu et al. 2021 na základě bioinformatické analýzy, vytipovali v oblasti 2p22.2 jako pro epilepsii potenciálně rizikový gen *QPCT* [OMIM *607065]. Citlivost na dávku (triplosenzitivita) není ani u jednoho z výše zmíněných genů prozatím známa. Případnou kauzalitu by podporoval fakt, že duplikační varianty stejného nebo podobného rozsahu nejsou v DGV popsány. V databázi DECIPHER je uveden jeden případ (ID:289942) s fenotypem epilepsie, psychóza, diabetes mellitus. Duplikace menšího rozsahu u tohoto pacienta, leží v identické oblasti 2p22.2, avšak nezasahuje výše zmíněné geny. Duplikace byla uzavřena jako VUS a její původ není uveden. U tohoto pacienta/ky (pohlaví neuvedeno) byla navíc detekována delece chromozomu 19, hodnocená jako pravděpodobně benigní.

4.2.3.2.3 Duplikace 2p25.3 (E18007_♀)

Duplikace byla nalezena u ženy s opožděným PMV a farmakorezistentní epilepsií. CNV zasahovala v celém rozsahu gen *PXDN* [OMIM *605158] a dále 20. - 25. exon genu *MYTIL* [OMIM *613084, NM_001303052]. Patogenní SNV a delece genu *MYTIL* jsou známou příčinou rozvoje ID [OMIM:616521, ORPHA:178469] (De Rocker et al. 2015). Mezi hlavní fenotypové znaky pozorované u patogenních SNV genu *MYTIL* patří opoždění řeči (95 % jedinců), ID (70 %), nadváha/obezita (58 %), poruchy chování (98 %) a epilepsie (23 %) (Coursimault et al. 2021). Disrupce genu v souvislosti s duplikací byla publikována jako potenciálně kauzální pro schizofrenii (Y. Lee et al. 2012). Kauzalita duplikací je však nejasná. V databázi DECIPHER jsou varianty téměř identického rozsahu hodnoceny protichůdně, od pravděpodobně benigních přes VUS až po pravděpodobně patogenní. Jako pravděpodobně patogenní je hodnocena u dvou jedinců (ID:340315, ID:501635) s PAS a celkovým opožděním vývoje a u jednoho pacienta (ID:501682) s epilepsií. Původ těchto variant není uveden. V databázi DGV jsou popsány duplikační varianty. Proti případné kauzalitě svědčí také fakt, že geny nejsou dle „*ClinGen dosage sensitivity map*“ citlivé na dávku ve smyslu triplosenzitivity a duplikace u našeho pacienta byla zděděna od zdravého otce.

4.2.3.2.4 Duplikace 2q22.2 (E20041)

Jako nejasná byla uzavřena duplikace oblasti 2q22.1 detekovaná u pacientky s epilepsií, poruchou učení, hyperaktivitou, brachydaktýlií a nspecifickou faciální dysmorfii. Původ aberace nebylo možné ověřit a další vyšetření, která by mohla odhalit příčinu, lépe vysvětlující obtíže, nebyla pro nespolupráci rodiny provedena.

Duplikací je zasažen pouze gen *HNMT* [OMIM *605238]. Patogenní SNV byly popsány u AR ID 51 (MRT51) [OMIM *616739, ORPHA:88616] (Heidari et al. 2015; Verhoeven et al. 2020). Gen *HNMT* kóduje histamin-N-methyl transferázu, která je esenciální pro metabolismus neurotransmiteru histaminu (Yoshikawa et al. 2019). Citlivost na dávku není u genu známá. V databázi DECIPHER lze dohledat několik pacientů, u nichž je duplikace hodnocena převážně jako VUS (ID:288536, ID:371025, ID:353585). Abnormality na EEG jsou uvedeny pouze u jednoho pacienta (ID:371025) s duplikací nejasného původu. U téhož pacienta byla také detekována duplikace chromozomu X, nejasné klinické signifikance.

4.2.3.2.5 Delece exonu 2 genu CNTN6 (E17033_♂)

Intragenová CNV v oblasti 3p26.3 zasahující 2. exonu genu *CNTN6* [OMIM *607220, NM_001289080.2], byla nalezena u pacienta s opožděným PMV a epilepsií. Duplikace byla zděděna od zdravé matky. Další vyšetření (panel DEE) neprokázalo jinou příčinu rozvoje epilepsie. WES si rodiče nepřáli.

CNV genu *CNTN6* byly detekovány nejen u pacientů s epilepsií, ale také u zdravých kontrol. Autoři předpokládají, že tyto aberace jsou spíše rizikovým faktorem a jejich manifestace je ovlivněna neúplnou penetrancí a variabilní expresivitou (Hu et al. 2015; Repnikova et al. 2020). Rozsahově podobné CNV jsou publikovány v databázi DGV. V databázi DECIPHER lze dohledat jednu pacientku (ID:262200) s heterozygotní *de novo* delecí, u které byla popsána epilepsie, srdeční vada, mikrocefalie a ID. Nicméně u pacientky byla detekována další CNV – delece chromozomu 7, zděděná od stejně postiženého rodiče. Tato informace spíše kauzalitu exonové delece genu *CNTN6* vyvrací, stejně jako fakt, že i duplikace u našeho pacienta byla zděděna od zdravé matky. Vzhledem k protichůdným informacím zůstává varianta nejasnou.

4.2.3.2.6 Duplikace 6q16.3 (E20002_♀)

Duplikace paternálního původu byla nalezena u dívky s ID, epilepsií, opožděným PMV, opožděným vývojem řeči a lymfedémem.

V databázi DGV a DECIPHER nejsou popsány stejné ani podobné duplikační CNV. Duplikace zasahovala v celém rozsahu genu *HACE1* [OMIM *610876], který je nezbytný pro normální vývoj CNS (Nagy et al. 2019). Chen et al. 2018, popsali, že zvýšená exprese genu vede k potlačení *Wnt/β-catenin* signalizační dráhy. Změny dráhy *Wnt/β-catenin* jsou De Ferrari et al. 2006 popisovány jako rizikové a zapojené do rozvoje neurovývojových a neurodegenerativních onemocnění. Gen je předmětem zájmu výzkumné skupiny „*The ClinGen epilepsy Gene Curation Expert Panel*“. Citlivost genu na dávku nebyla prozatím hodnocena. Vyšetření WES neprokázalo žádnou podezřelou variantu, která by fenotyp vysvětlila lépe.

4.2.3.2.7 Duplikace 7q11.22 (E21001_♂)

Duplikace zasahující 1. a 2. exonu genu *AUTS2* [OMIM *607270, NM_015570.4] byla nalezena u chlapce s epilepsií, mírně opožděným PMV a ID. Duplikace byla zděděna od zdravého otce. V databázi DGV je popsána jedna rozsahově menší varianta

(nsv4137316). V databázi DECIPHER jsou publikovány především rozsahově větší duplikace, zasahující mnoho dalších genů.

Bílkovinový produkt genu *AUTS2* je nezbytný pro správný vývoj kortikálních neuronů a neurální migraci (Hori et al., 2014; Hori et al. 2017; Castanza et al., 2021). Delece a patogenní SNV byly popsány jako příčina rozvoje *AUTS2* sy. [OMIM #615834, ORPHA:352490], jež se projevuje ID, mikrocefalií, PAS a epilepsií (Beunders et al. 2013; 2016). Citlivost na dávku byla prokázána ve smyslu haploinsuficience, triplosenzitivita byla negována. Gen je předmětem zájmu výzkumné skupiny „*The ClinGen epilepsy Gene Curation Expert Panel*“. Aberace genu byly popsány také ve spojitosti s rozvojem ADHD, depresí a psychiatrických poruch (Mefford et al. 2010; Hori et al. 2021). Nagamani et al. 2013 popisuje duplikaci exonu 5 u chlapce s generalizovanými tonicko-klonickými křečemi. U našeho probanda byla navíc detekována další CNV (duplikace 15q11.2 - HFLP). Vyšetření WES prokázalo u probanda *de novo* heterozygotní variantu *c.1372C>T, p. (Arg458*)* v genu *ANKRD11* [OMIM *611192]. Varianta je hodnocena jako patogenní a nebyla prokázána u zdravých jedinců. Patogenní SNV genu jsou asociovány s KBG sy. [ORPHA:2332]. Typickými fenotypovými znaky syndromu jsou makrodoncie, ID, faciální dysmorfie, malý vzrůst, skeletální abnormality a v menší míře také epilepsie. Je tedy pravděpodobné, že příčina obtíží u probanda je spíše vysvětlena přítomností patogenní SNV. Nicméně podíl duplikace 7q11.22 a 15q11.2 na výsledném fenotypu nelze zcela vyloučit.

4.2.3.2.8 Delece 10q23.1 (E21041_♀)

Intersticiální delece chromozomové oblasti 10q23.1 zasahující 2. - 3. exon genu *NRG3* [OMIM *605533, NM_001010848.4]. U dívky byla prokázána epilepsie, opožděný PMV, DMO, poruchy vývoje řeči. Dívka je upoutána na invalidní vozík a vyžaduje nepřetržitou péči. Původ delece nemohl být zjištěn z důvodu absence vzorku rodičů. V databázi DGV nejsou popsány deleční varianty. Několik menších intragenových delecí, klasifikovaných jako VUS či jako pravděpodobně benigní, je uvedeno v databázi DECIPHER. Jako patogenní je hodnocena delece u pacienta (ID:501463) s hirsutismem. Mezi popsané funkce genu *NRG3* patří indukce růstu a diferenciacie řady buněk skrze ErbB receptory (Fallin et al. 2005; Chen et al. 2009), či regulace SNARE komplexu v presynaptických spojeních (Wang et al. 2018). Knockout genu u myši vedl v pozorováních Wang et al., 2018 ke zvýšené glutamatergní transmissi. Dle ClinGen dosage sensitivity však neexistují důkazy prokazující citlivost k haploinsuficenci.

4.2.3.2.9 Duplikace 11p11.2 (E21003_♂)

Duplikace byla nalezena u chlapce s PAS, ADHD, opožděným PMV, epilepsií a agresivitou. Duplikace byla zděděna od zdravé matky. V databázi DGV je popsána jedna rozsahově podobná duplikace (nsv4210412). Podobné duplikační varianty jsou v databázi DECIPHER hodnoceny převážně jako benigní (ID:307922, ID:288560) a jedna (ID:4137), zděděná od zdravého rodiče jako VUS (fenotyp není uveden).

CNV zasahuje celkem sedm OMIM genů (*AMBRA1*, *HARB1*, *ATG13*, *ARHGAP1*, *ZNF408*, *F2*, *CKAP5*). Dva z nich, *F2* a *ZNF408*, jsou spojovány s geneticky podmíněným onemocněním, avšak bez manifestace epilepsie. Citlivost na dávku u těchto genů není prozatím známá.

U našeho probanda byla navíc detekována maternální duplikace Xp22.31 (HFLP) a paternální delece 2p16.3 (gen *NRXN1*_VUS). Je tedy možné, že fenotyp tohoto pacienta je spíše dán (podmíněn) kombinací několika CNV. Kauzalitu duplikace 11p11.2 ve spojitosti s dalšími detekovanými CNV nelze v současné době specifikovat.

4.2.3.2.10 Delece 11p13 (E20031_♂)

Paternální delece oblasti 11p13 byla detekována u chlapce s epilepsií, ID a faciální dysmorfii.

V databázi DGV jsou popsány podobné deleční varianty (esv2751022, nsv529004). Většina delečních variant je v databázi DECIPHER klasifikována jako patogenní, nicméně se jedná o jedince s aniridií. Vyšetření panelu DEE a WES u našeho pacienta neprokázalo jinou příčinu.

Detekovaná CNV zasahuje 4 OMIM geny – *IMMP1L*, *DCDC1*, *DNAJC24* a *ELP4*. Citlivost na dávku těchto genů není prozatím známa. Poslední ze zasažených genů *ELP4* [OMIM *606985] působí jako elongační faktor, ovlivňující migraci neuronů a kortikální vývoj (Creppe et al. 2009). Delece genu je asociována s rozvojem aniridie [ORPHA:250923] (Cheng et al. 2011; Wawrocka et al. 2012). Strug et al. 2009 označuje patogenní SNV genu jako rizikový faktor pro narušení vývoje mozku a s ním související rozvoj epilepsie a dalších NVO. Mikrodelece zasahující gen *ELP4* u pacientů s epilepsií publikoval Addis et al. 2015, nicméně u jejich souboru pacientů nebyla provedena žádná metoda k detekci případných SNV.

4.2.3.2.11 Delece 13q34 (E17048_♂)

Delece oblasti 13q34 byla prokázána u pacienta s opožděným PMV, epilepsií a faciální dysmorfii. Delece byla zděděna od zdravého otce. Vyšetření panelu DEE a WES neodhalilo jinou příčinu epilepsie

V databázi DECIPHER je uvedena pouze jedna deleční varianta u pacienta s poruchou chování (ID:278019), u které však není uvedena dědičnost ani klinická signifikance. Detekovaná delece 13q34 zasahuje dva geny *COL4A1* [OMIM *120130] a *COL4A2* [OMIM *120090]. Mutace genu *COL4A2* je spojována s AD familiární porencefalií [ORPHA:99810] a mutace genu *COL4A1* je zodpovědná za rozvoj několika AD onemocnění: familiární porencefalie [ORPHA:99810], familiární vaskulární leukoencefalopatie [ORPHA:36383], familiární schizencefalie [ORPHA:481986], Walkerův-Warburgův sy. [ORPHA:899], AD pontinní mikroangiopatie s leukoencefalopatií [ORPHA:477749], retinální arteriální tortuozita [ORPHA:75326]. V dostupné literatuře je popisován případ dívky s hemiplegií na levé straně, farmakorezistentní epilepsií a opožděným vývojem, u které byla prokázána *de novo* patogenní SNV genu *COL4A1* (Hino-Fukuyo et al. 2017). Hemiparéza, epilepsie a vývojové opoždění jsou popisovány u několika dalších jedinců s mutací genu *COL4A1*. Patogenní SNV genu *COL4A1* u pacientů s epilepsií popsali také Wang et al. 2020 a Boyce et al. 2021. Duplikace či delece ve spojitosti s epilepsií nejsou v současné době popsány.

4.2.3.2.12 Duplikace 16p13.2 (E19066_♀)

U dívky s epilepsií a opožděným PMV byla prokázána duplikace 16p12.2 zasahující čtyři OMIM geny (*UQCR2*, *EEF2K*, *POLR3E*, *CDR2*). Duplikace byla zděděna od zdravé matky. V databázi DGV a DECIPHER nejsou uvedeny duplikační varianty tohoto rozsahu. Citlivost na dávku u výše zmíněných genů není prozatím známá. S rozvojem onemocnění je spojován pouze gen *UQCRC2* [OMIM *191329], který je asociován s AR deficiencí mitochondriálního komplexu III [ORPHA:1460]. U ostatních zasažených genů není v literatuře popisována spojitost s rozvojem NVO či epilepsie. Klinický dopad této duplikace zůstává nejasný. Vyšetření karyotypu u dívky prokázalo navíc přítomnost nadbytečného chromozomu X (47,XXX). Několik publikací popisuje epilepsii jako jeden z fenotypových projevů syndromu 47,XXX (Takei et al. 1969; Sills et al. 1978; Roubertie et al. 2006; Grosso et al. 2008; Gschwind et al. 2022). Nejčastěji se jednalo o fokální epilepsie s brzkým nástupem. Prevalence epilepsie u 47,XXX je odhadována na 11 - 15 % (Tartaglia et al. 2010). V současné době je sice nález duplikace 16p12.2 v kombinaci s 47,XXX

nejasný, avšak vzhledem k tomu, že ani metodou WES nebyla jiná příčina obtíží u naší pacientky nalezena, zůstávají tyto dva nálezy prozatím možnou příčinou rozvoje epilepsie.

4.2.3.2.13 Duplikace 16p13.2 (E21063_♂)

Duplikace oblasti 16p13.2 maternálního původu byla nalezena u chlapce s epilepsií, opožděnou myelinizací mozku, dolichocefalií, faciální dysmorfii, malformací sternu a arachnodaktýlií. V databázi DGV je uvedena řada duplikačních variant v tomto regionu. V databázi DECIPHER jsou popsány duplikační varianty, které však nekorrespondují s rozsahem duplikace u pacientky a překrývají se pouze částečně. Tyto varianty jsou hodnoceny různě, od benigních po pravděpodobně patogenní.

Duplikace zasahuje dva AR geny, respektive 2. – 16. exon genu *ABAT* [OMIM *137150, NM_020686.6] a 1. exon genu *PMM2* [OMIM *601785, NM_000303]. Homozygotní a složené heterozygotní patogenní varianty genu *ABAT* jsou popisovány jako kauzální pro rozvoj AR dědičné *GABA*-transaminázové deficiencie [OMIM #613163, ORPHA:2066]. Borlot et al. 2017 popisují duplikace genu *ABAT* jako možnou příčinu rozvoje syndromu Lennox-Gastaut. Tassano et al. 2015 publikují případ dívky s epilepsií, ID, ventrikulomegalií, frontonasální kalcifikací a faciální dysmorfii, která nesla duplikaci o rozsahu 5,3 Mb zahrnující několik genů, včetně genu *ABAT*. Výsledek WES byl ve shodě s nálezem na aCGH, další klinicky suspektní varianta zjištěna nebyla, nepotvrdila se ani suspektní SNV na druhé alele genu *ABAT*.

4.2.3.2.14 Duplikace 17p13.3 (E17014_♀)

Jako VUS byla klasifikována maternální duplikace 17p13.3 u dívky s těžkou farmakorezistentní epilepsií (Lennoxův – Gastautův sy.). Kromě epilepsie bylo u dívky popsáno opoždění PMV a dyskalkulie. Detekovaná duplikace zasahuje 6 OMIM genů (*YWHAE*, *CRK*, *MYO1C*, *INPP5K*, *PITPNA*, *SLC43A2*). Citlivost na dávku ve smyslu triposenzitivity je u těchto genů negována, případně není známa. V databázi DGV je popsána jedna rozsahově podobná duplikační varianta (nsv4239816). V databázi DECIPHER jsou publikovány obdobné duplikační varianty hodnocené převážně jako pravděpodobně patogenní či VUS.

Rekurentní aberace této oblasti jsou rozděleny na dvě třídy – duplikace zahrnující gen *PAFAH1B1* [OMIM *601545] a duplikace, bez zasažení genu *PAFAH1B1*, ale zahrnující gen *YWHAE* [OMIM *605066] (Bruno et al. 2010). Spojitost s rozvojem PAS a ID je uváděna u genu *YWHAE* a *CRK* [OMIM *164762] (Capra et al. 2012; Curry et al.

2013; Blazewski et al. 2018). Produktem genu *YWHAE* je protein, plnící řadu funkcí v CNS (Cornell et al. 2016) a interagující s proteiny nezbytnými pro neurální signalizaci (Noor et al. 2018). Dle Cornell et al., 2016 vede zvýšená exprese genu ke snížení formace neuritů. Bruno et al. 2010 popisuje duplikace jako faktor negativně ovlivňující vývoj neurální sítě. Duplikace ve spojitosti s rozvojem epilepsie nebyly prozatím popsány. Gen *CRK* plní roli v regulaci růstu a podílí se na buněčných účincích vyvolaných růstovým hormonem a inzulinu podobnému růstovému faktoru 1. Delece byla popsána pouze ve spojitosti s postnatální růstovou deficiencí (Østergaard et al. 2012). Vyšetření panelu DEE neprokázalo žádnou jinou klinicky suspektní SNV vysvětlující rozvoje epilepsie u naší probandky.

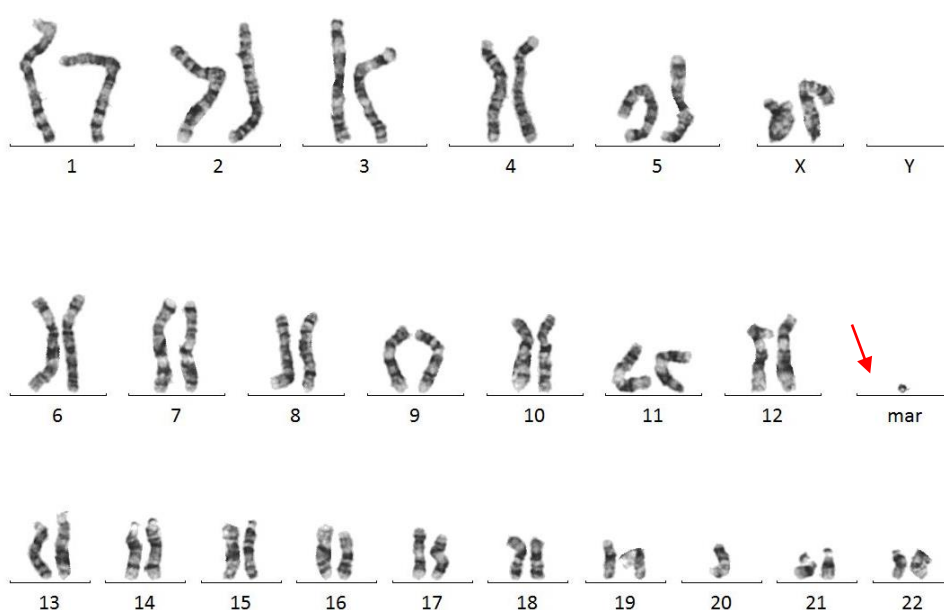
4.2.3.2.15 30% mozaika duplikace 17p11.2q11.2 (E18058_♀)

Vyšetření metodou aCGH bylo provedeno u pacientky s nálezem marker chromozomu (sSMC, small Supernumerary Marker Chromosome) ve 27 % mitóz (*Obrázek 25*). *De novo* duplikace 17p11.2q11.2 o velikosti 8,3 Mb byla metodou aCGH detekovaná ve ~ 30% mozaice a byla klasifikována jako VUS.

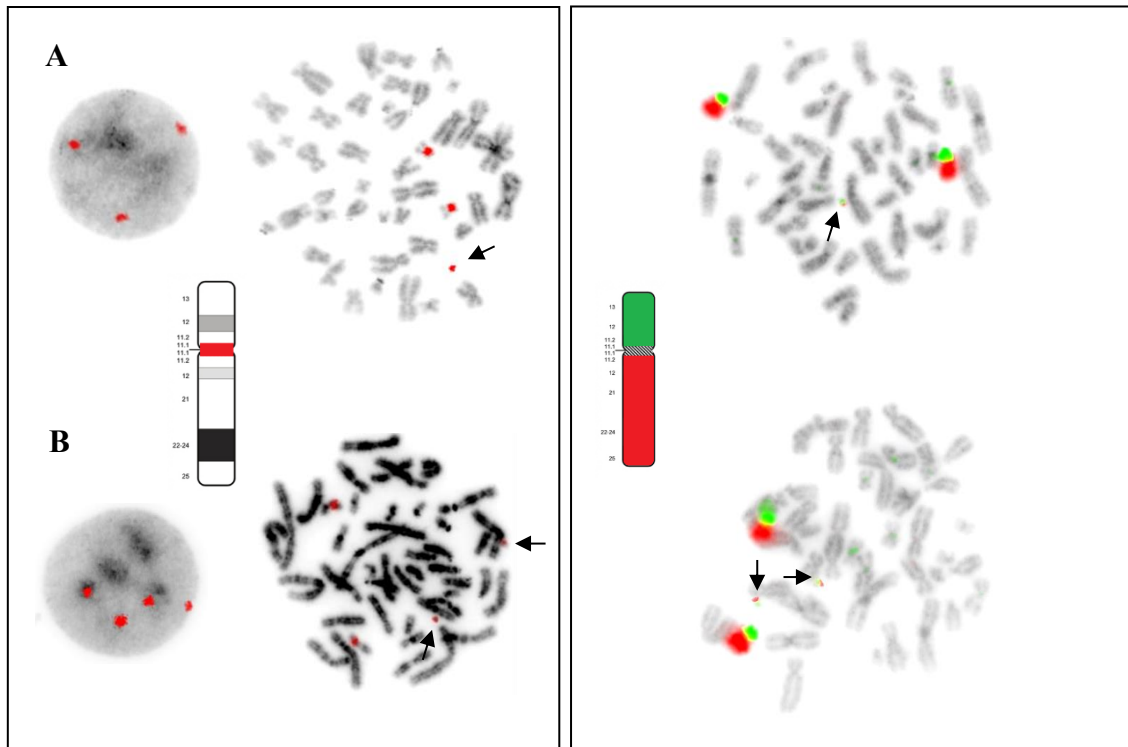
Pro upřesnění procentuálního zastoupení bylo doplněno vyšetření periferní krve metodou FISH za použití sondy pro centromeru 17 a malovací sondy pro 17p a 17q. FISH potvrdila přítomnost sSMC(17) ve 20 % buněk (*Obrázek 26*). Vyšetření prokázalo navíc přítomnost třetí buněčné linie, zastoupené dvěma sSMC(17) v 10 % buněk (*Obrázek 26*). Použitím malovacích sond pro *p* a *q* raménka bylo zjištěno, že marker chromozom kromě centromery obsahuje genetický materiál z obou ramének chromozomu 17. Metodou aCGH byl detailněji objasněn genový obsah (*Obrázek 27*). Duplikovaná oblast zasahuje celkem 225 genů (60 OMIM genů, 12 z nich je spojeno s geneticky podmíněným onemocněním). Většina publikovaných pacientů se sSMC(17) vykazuje vývojové opoždění různého stupně a ID. Epilepsie nebývají běžně popisovány. V literatuře lze dohledat pouze dva případy (*Obrázek 28*), kdy byla manifestována epilepsie (Kogan et al. 2009; Cornelius et al. 2015). V případě publikovaném skupinou Kogan et al., 2009 byl však detekován, kromě sSMC(17), další sSMC z oblasti 13q11q12.11 o velikosti 2,2 Mb. Jako potenciálně kauzální pro NVO označuje Cornelius et al., 2005 geny *NOS2* [OMIM *163730] a *TRAF4* [OMIM *602464]. Proteinovým produktem genu *NOS2* je NO-syntetáza, která katalyzuje oxidaci L-argininu za vzniku radikálového iontu oxidu dusnatého (NO[•]). Oxid dusnatý v organismu ovlivňuje neurotransmisi a usnadňuje uvolňování dopaminu (Karatinos et al. 1995; West et al. 2002). Duplikace by tedy mohla ovlivňovat hladinu NO a jeho funkci (Cornelius et al. 2015).

Karatinos et al. 1995 pak předpokládají úlohu v rozvoji neuropsychiatrických poruch. Ani u jednoho z genů však není známa citlivost na dávku. Další sSMC(17) podobného rozsahu, v 88% mozaice, popsal Bertelsen et al. 2013 u pacienta s ADHD a Touretovým syndromem.

U naší probandky bylo ve fenotypu, kromě epilepsie, popsáno ADHD, porucha chování, hraniční intelekt, hyperpigmentace, hirsutismus a opakované pyelonefritidy. Přítomnost sSMC(17) by mohla pravděpodobně vysvětlovat obtíže typu ID, nicméně z hlediska epilepsie a dalších fenotypových projevů zůstává kauzalita nejasná.

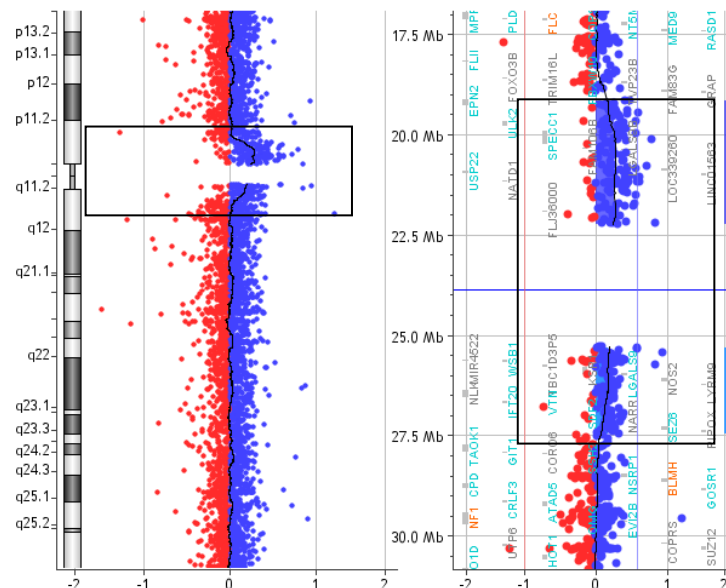


Obrázek 25: Výsledek vyšetření karyotypu u vzorku E18058
Červená šipka označuje marker chromozom.



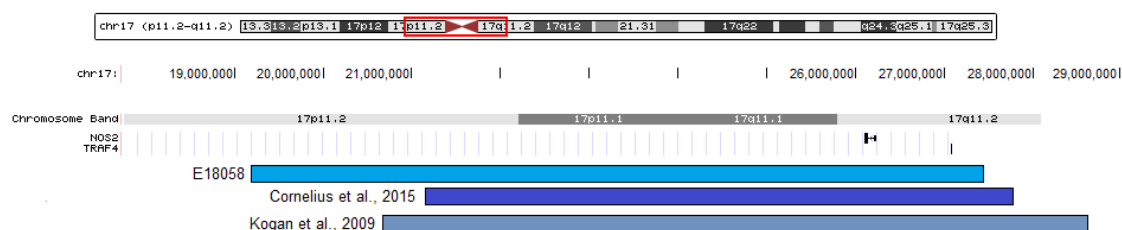
Obrázek 26: Výsledek vyšetření metodou FISH u vzorku E18058

Levá část obrázku zobrazuje výsledek vyšetření při použití sondy pro centromeru chromozomu 17: A – tři červené signály pro centromeru 17 na jádře, na mitóze patrný červený signál na malém marker chromozomu; B – patrné čtyři červené signály pro centromeru chromozomu 17, na mitózách prokázané také čtyři signály, dva z toho v obvyklé lokalizaci na chromozomech 17 a dva na malých nadpočetných marker chromozomech. Pravá část obrázku prezentuje totožný výsledek, avšak při použití malovacích sond pro p (zelená) a q (červená) raménko.



Obrázek 27: Výsledek aCGH u pacientky E18058

Ve výsledku je patrná duplikace pericentromerické oblasti chromozomu 17, znázorněná vychýlením středové křivky (značící hodnotu 0) k hodnotě 1.



Obrázek 28: Znázornění rozsahu duplikace u dvou publikovaných případů a pacientky E18058.

V obrázku je dále zakreslena poloha dvou dle Cornelius et al., 2015, potenciálně kandidátních genů NOS2 a TRAF4 pro NVO. Zpracováno pomocí UCSC genome browser on human, <https://genome.ucsc.edu/index.html>

4.2.3.2.16 Duplikace 17q25.1 (E19034_♀)

Duplikace, bez uzavřeného rodičovského původu, byla nalezena u dívky s epilepsií, vývojovým opožděním, hraniční ID a myopií. Původ aberace nebylo možné uzavřít z důvodů chybění DNA obou rodičů.

Klasifikace nalezené varianty se napříč databázemi liší – od benigních po pravděpodobně patogenní. V databázi DECIPHER lze dohledat desítky pacientů, přičemž epilepsie byla popsána pouze u jednoho z nich (ID:381487), u něhož byla duplikace maternálního původu. Duplikace podobného rozsahu jsou publikovány v DGV. Z hlediska epilepsie by mohlo hrát roli zasažení genu *GPRC5C* [OMIM *605949], který kóduje metabotropní glutamátový receptor, který ovlivňuje modulaci synaptické transmise a neurální vzrušivost CNS (Niswender et al. 2010). Nicméně stejně jako v ostatních případech, nebyly duplikace prozatím popsány, jako příčina epilepsie. Citlivost genu na dávku není známa. Vyšetření panelu genů DEE neodhalilo jinou příčinu rozvoje obtíží, WES si rodiče nepřáli.

4.2.3.2.17 Duplikace 18q22.1 (E21027_♂)

Duplikace neznámého rodičovského původu byla detekována u chlapce s epilepsií, ID, ADHD a opožděným vývojem. Vyšetřením panelu CES-CID nebyla u našeho pacienta prokázána jiná klinicky suspektní SNV. Duplikací je zasažen jeden OMIM gen *TMX3* [OMIM *616102], jež není spojován s žádným onemocněním a citlivost na dávku není známa. V databázi DGV jsou popsány menší duplikační varianty (nsv4255861 a dgv3390n100). V databázi DECIPHER lze najít jednu pacientku s epilepsií (ID:317674),

u níž byla maternálně zděděná CNV hodnocena jako VUS. U této pacientky byla navíc detekována paternální, nejasná duplikace oblasti 7q11.22 zasahující gen *AUTS2*. Spojitost s rozvojem epilepsie u tohoto genu je diskutována v kapitole 4.2.3.2.7.

4.2.3.2.18 Delece 22q11.22q11.23 (E19018_♂)

Maternální delece oblasti 22q11.22q11.23 se nacházela mezi zlomovými místy LCR22-5(E) - LCR22-6(F). V databázi DGV jsou popsány deleční varianty podobného rozsahu. V databázi DECIPHER jsou uvedeny desítky pacientů s delecí tohoto regionu, u nichž byla popsána ID, faciální dysmorfie a PAS. Epilepsie byla popsána pouze u pacienta ID:351609, který taktéž vykazoval ID a celkové opoždění vývoje. Klasifikace varianty u jednotlivých pacientů je uzavírána jako pravděpodobně benigní, VUS či jako pravděpodobně patogenní. V dostupné literatuře jsou spíše popisovány duplikace regionu 22q11.22q11.23, u nichž je epilepsie častější než u námi detekované delece (Ensenauer et al. 2003; Coppinger et al. 2009; Shimojima et al. 2010). U našeho pacienta bylo provedeno vyšetření panelu DEE, kterým nebyla zjištěna žádná jiná suspektní varianta, WES proveden nebyl z důvodu chybějícího vzorku DNA otce. Ačkoli fenotyp probanda zahrnuje PAS, ID, opožděný PMV, autoagresivitu a faciální dysmorfie odpovídá nalezené CNV, z hlediska epilepsie zůstává kauzalita nejasná.

4.2.3.2.19 Delece Xp22.31 u chlapce s epilepsií (E17060_♂)

Delece oblasti Xp22.31 byla nalezena u chlapce s epilepsií, faciální dysmorfie a kongenitální X-vázanou ichtyózou [ORPHA:461], podmíněnou delecí genu *STS*, který se nachází v inkriminovaném regionu Xp22.31. Epilepsie byla popsána u několika jedinců s vrozenou ichtyózou (Quattrini et al. 1986; Gohlke et al. 2000; Carrascosa-Romero et al. 2012; Ohyama et al. 2019; Myers et al. 2020). Rodrigo-Nicolás et al., 2018 publikovali studii, kdy epilepsii pozorovali u 4/30 (13 %) jedinců s X-vázanou ichtyózou. Jako potenciálně kauzální se jeví gen *STS*, který je nezbytný pro správnou tvorbu steroidních hormonů. Steroidní hormony hrají důležitou roli ve vývoji a správném fungování mozku (Kříž et al. 2008) a jejich deficiencie by mohla vést k vývojovým abnormalitám mozku a následným neurologickým následkům (Myers et al. 2020). Původ aberace není znám z důvodu nevyšetření rodičů. Vyšetření panelu DEE prokázalo maternální SNV genu *DNMI* [OMIM *602377], která byla uzavřena jako benigní a není tudíž příčinou rozvoje epilepsie.

4.2.4 CNV detekované ve skupině D

Do skupiny D bylo zařazeno 38/400 (9,5 %) jedinců. U 9/38 (23,7 %) bylo identifikováno 10 klinicky podezřelých CNV. Jako pravděpodobně patogenní byly uzavřeny 2/10 (20 %) CNV. 7/10 (70 %) CNV bylo uzavřeno jako nejasných a 1/10 (10 %) CNV byla uzavřena jako HFLP. Klasifikace detekovaných variant a jejich dědičnost je uvedena v *Tabulce 13*. Ačkoli zde prezentovaná část souboru skýtá určité limitace (velikost souboru, nemožnost vyšetření rodičů probandů), ukazuje se, že vyšetření pomocí metody aCGH může být i u jedinců s epilepsií na podkladě MCD přínosné. Ve dvou případech byly nalezené CNV uzavřeny jako pravděpodobná příčina epilepsie. U nejasných variant byly vytipovány možné kauzální geny. V jednom případě byl jako možný mechanismus vedoucí k rozvoji onemocnění označen „*second-hit*“ model, tedy kombinace dvou a více genomických variant (CNV i SNV) spolupodílejících se na výsledném fenotypu. Vhodná kombinace metod může vést k odhalení dalších takových případů. Rozšíření této specifické skupiny pacientů o další jedince by do budoucna mohlo vést k odhalení nových kauzálních CNV a případnému potvrzení našich závěrů o možné kauzalitě u navrhovaných genů a reklasifikaci detekovaných aberací.

Tabulka 13: CNV detekované u pacientů ze skupiny D

Šedé podbarvené řádky představují nález několika CNV u téhož pacienta. VUS: varianta nejasného významu; PP: pravděpodobně patogenní; HFLP: highfrequency, lowpenetrant; „-“: dědičnost neznámá, ADHD: porucha pozornosti s hyperaktivitou, U maternálních/paternálních CNV je v závorce uveden fenotyp rodiče, nesoucího totožnou CNV. Není-li fenotyp uveden, rodič je „zdráv“.

Označení	Nález	Klasifikace	Dědičnost
E17070	arr[GRCh37]16p11.2(28824794_29043960)x3	PP	-
E18068	arr[GRCh37]2p13.1(74349200_74616182)x3	VUS	paternální (ADHD, porucha učení, dyslexie)
E19015	arr[GRCh37]15q13.3(32065000_32514980)x3	VUS	-
	arr[GRCh37]Xp22.31(6453313_8115153x2~3)	HFLP	-
E19039	arr[GRCh37]7q31.1(111030974_111134620)x1	VUS	-
E21010	arr[GRCh37]4q12(55968500_56697917)x3	VUS	-
E21026	arr[GRCh37]16p13.3(6660927_6685699)x3	VUS	-
E21035	arr[GRCh37]1q44(246143162_246606756)x1	VUS	-
E21042	arr[GRCh37]15q11.2q13.1(23656936_28520313)x3	PP	<i>de novo</i>
E21055	arr[GRCh37]16p13.3(6767242_6801642)x1	VUS	paternální

4.2.4.1 Pravděpodobně patogenní CNV

Jako pravděpodobně patogenní byly uzavřeny 2/10 (20 %) CNV, detekované u 2/38 (5,2 %) jedinců. Jednalo se o duplikaci oblasti 16p11.2 a duplikaci oblasti 15q11.2q13.1.

4.2.4.1.1 Duplikace 15q11.2q13.1 (E21042_♂)

Jako pravděpodobně patogenní byla hodnocena *de novo* duplikace oblasti 15q11.2q13.1 u chlapce s epilepsií vzniklé na podkladě FCD (E21042). Duplikace leží v oblasti 15q11q13 mikroduplikačního syndromu (BP2-BP3), kritické pro rozvoj Praderův – Williho sy. [OMIM #176270, ORPHA:739] a Angelmanova sy.[OMIM #105830, ORPHA:72] a zasahuje minimálně dva geny *GABRA5* [OMIM *137142] a *GABRB3* [OMIM *137192], jež jsou asociovány s rozvojem epilepsie. Vliv zasažených genů na rozvoj MCD není prozatím popsán. V literatuře lze dohledat pouze jednu studii od Copping et al. 2017, zabývající se duplikací genu *UBE3A* [OMIM *601623]. Dle studie vede duplikace genu u myších modelů k hypoplázii předního mozku, hipokampu, amygdaly a kortikální masy. Mohlo by se tedy jednat o potenciálně kauzální gen, jehož aberace vedou ke změnám struktury mozku souvisejících s MCD. Vzhledem k negativnímu výsledku vyšetření panelu MCD, zůstává námi detekovaná duplikace prozatím jedinou možnou příčinou rozvoje FCD a epilepsie u našeho pacienta.

4.2.4.1.2 Duplikace 16p11.2 (E17070_♂)

Duplikace 16p11.2 byla nalezena u chlapce s gliomem, mikrocefalií a dalšími NVO. Duplikace se nacházela mezi zlomovými místy označovanými jako BP2-BP3 (distální 16p11.2 mikroleční syndrom). Původ duplikace se nepodařilo uzavřít z důvodu vyšetření pouze jednoho rodiče, který variantu nenesl. DNA druhého rodiče nebyla k dispozici. Duplikace v této oblasti jsou v literatuře hodnoceny jako patogenní avšak s vysokou mírou variability fenotypových projevů a neúplnou penetrancí, která je odhadována na 11,2 % (Rosenfeld et al. 2013). K nejčastějším symptomům patří opožděný vývoj, epilepsie a PAS (Shinawi et al. 2010; Reinthaler et al. 2014; Steinman et al. 2016). Strukturní anomálie mozku (atrofie a gliózy thalamu, anomálie mozečku, kortikální dysplázie, opožděná myelinizace) byly v literatuře opakovaně popsány u řady jedinců (Shinawi et al. 2010; Schaaf et al. 2011; Filges et al. 2014; Blackmon et al. 2018), chybí ovšem informace o korelaci jednotlivých fenotypových projevů s konkrétním podtypem duplikací v této oblasti. Data o fenotypu jsou reportována souhrně ve vztahu ke všem typům duplikací nacházejících se mezi různými zlomovými místy v oblasti 16p11.2. Ačkoli je většina fenotypových znaků

pacienta vysvětlena přítomností duplikace, souvislost s rozvojem gliomu je nejednoznačná, stejně tak nelze vyloučit, že epilepsie u našeho pacienta je důsledkem přítomnosti gliomu. Vzhledem k dosud publikovaným datům hodnotíme variantu jako pravděpodobně patogenní i přes absenci vzorku rodičů, neboť detekce stejného CNV u rodičů by vzhledem k nízké penetranci patogenitu nevyklučovala.

4.2.4.2 Varianty nejasného významu

Níže uvedené varianty patří k vzácným a málo popsáným nálezům, jejichž role v etiopatogenezi NVO a epilepsie je t.č. nejasná. Může se jednat o vzácné benigní polymorfizmy, ale také o rizikové faktory pro rozvoj NVO, neboť zasahují geny, jež se podílejí na správném vývoji a správné funkci CNS.

4.2.4.2.1 Duplikace 2p13.1 (E18068_♂)

Paternální duplikace 2p13.1 byla detekována u chlapce s lizencefalií a polymikrogyrií. V databázi DGV a DECIPHER nejsou uveeny žádné duplikační varianty podobného, menšího či většího rozsahu.

SNV a delece některých, duplikací zasažených genů jsou kauzální pro rozvoj geneticky podmíněných onemocnění (*Tabulka 14*), avšak nemají jasnou spojitost s MCD. U duplikací neexistují žádná pozorování udávající souvislost s rozvojem MCD a epilepsie. Ani u jednoho ze zasažených genů není známa citlivost na dávku. Při naší rešerši zasažených OMIM genů u duplikace 2p13.1 byly vytipovány dva geny, jejichž souvislost s rozvojem onemocnění by mohla být do budoucna přehodnocena. Jedná se o geny *MOB1A* [OMIM *609281] a *DCTN1* [OMIM *601143]. Oba geny kódují proteinové produkty, které jsou spojeny s funkcí mikrotubulů. Produkt genu *MOB1A* je nezbytný pro kontrolu stability mikrotubulů během cytokineze, a gen *DCTN1* kóduje největší podjednotku dynactinu, makromolekuly plnící v buňce funkci tzv. „molekulárního motoru“, jež je úzce spojena s vazbou na dynein a mikrotubuly. Nezbytnou a důležitou funkci plní také při regulaci stability mikrotubulů, kterou svou vazbou na mikrotubuly zvyšují. Narušení těchto funkcí bylo pozorováno u neurodegenerativních onemocnění (Lazarus et al. 2013). Patogenní SNV v genech pro tubulin a MAPs jsou známou příčinou rozvoje poruch korového vývoje. Narušení funkce zmíněných genů by mohlo vést k rozvoji onemocnění, nicméně duplikace nejsou v současné době v souvislosti s epilepsií popisovány. Varianta u našeho pacienta byla zděděna od klinicky zdravého rodiče. Vyšetření panelu MCD u pacienta neprokázalo jinou

suspektní variantu. Vzhledem k těmto informacím byla varianta klasifikována jako VUS s nutností revize v následujících letech.

Tabulka 14: Geny zasažené duplikací 2p13.1

Červené – OMIM morbid geny (geny s prokázáním vlivem na rozvoj onemocnění, černě tučně – OMIM geny, AD: autozomálně dominantní dědičnost; AR: autozomálně recesivní dědičnost,

2p13.1	<i>BOLA3¹</i> , <i>BOLA3-AS1</i> , <i>MOB1A</i> , <i>MTHFD2</i> , <i>SLC4A5</i> , <i>KRT18P26</i> , <i>RNU6-542P</i> , <i>NECAP1P2</i> , <i>TAF13P2</i> , <i>DCTN1²</i> , <i>DCTN1-AS1</i> 1Multiple mitochondrial dysfunctions syndrome 2 with hyperglycinemia [AR] 2Neuronopathy, distal hereditary motor, type VIIB [AD], Perry syndrome [AD]
--------	---

4.2.4.2.2 „Second-hit“ model u duplikace 15q13.3 (E19015_♂)

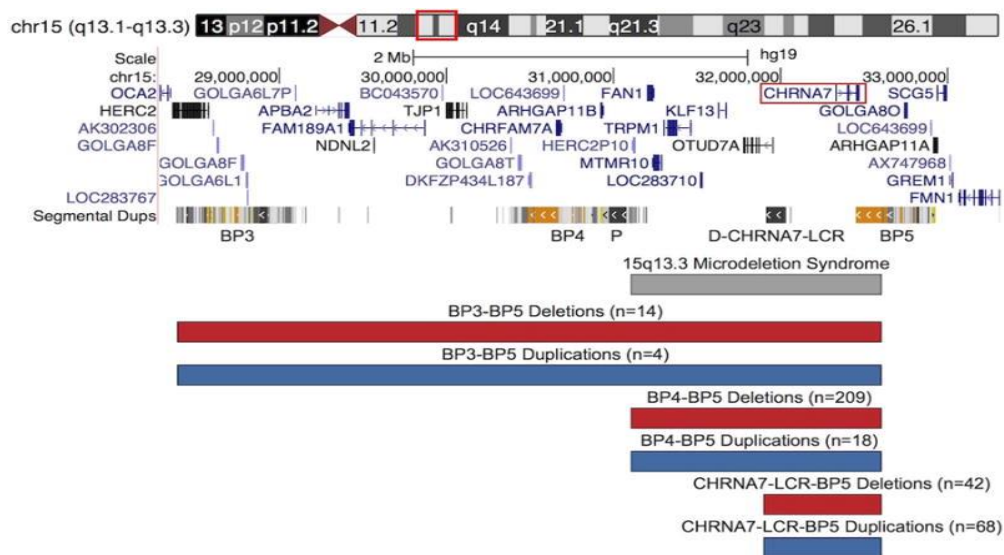
Pacientem byl chlapec s kortikální dysplázií a heterotopií šedé hmoty mozkové, u něhož byla nalezena duplikace typu VUS zasahující chromozomovou oblast 15q13.3 a duplikace Xp22.31 charakteru HFLP. Duplikace oblasti 15q13.3 leží mezi zlomovými místy označovanými jako *CHRNA7-LCR-BP5* a *D-CHRNA7-LCR* (Obrázek 29). Jedná se o rekurentní duplikaci zasahující zpravidla celý gen *CHRNA7* [OMIM *118511] a první exon genu *OTUD7A* [OMIM *612024]. Oba geny kódují proteiny nezbytné pro normální funkci synapsí. Gen *OTUD7A* je nezbytný pro vývoj a zrání synapsí (Yin et al. 2018). Gen *CHRNA7* kóduje vznik nikotin-acetylcholinového receptoru, zprostředkovávajícího přenos signálu v synapsích a jeho regulaci (Schaaf 2014). Dle ClinGen není u těchto genů popisována citlivost na dávku ve smyslu triplosenzitivity. V databázi DGV jsou popsány duplikační CNV. V databázi DECIPHER převažuje hodnocení identických variant jako patogenní.

Duplikace oblasti 15q13.3 jsou charakteristické neúplnou penetrancí a variabilní expresivitou (Szafranski et al. 2010), čímž se určení jejich klinické significance ve vztahu k fenotypu značně ztěžuje. Nejčastěji popisovanými symptomy jsou ID, PAS, epilepsie, ADHD, poruchy chování a vývojové opoždění (Gillentine et al. 2015). Dle nejnovějších poznatků lze duplikace mezi zlomovými místy *CHRNA7-LCR-BP5* a *D-CHRNA7-LCR* považovat za fenotypicky neutrální (Smajlagić et al. 2021). Proti případné patogenitě svědčí rovněž fakt, že většina těchto duplikací je zděděna od zdravého rodiče a jejich prevalence v populaci je poměrně vysoká (1/125) (Gillentine et al. 2017).

Z hlediska epilepsie jsou SNV a delece genu *CHRNA7* považovány za kauzální pro epileptické fenotypy (Gillentine et al. 2015). U duplikací korelace nebyla prokázána. V souvislosti s abnormalitami morfologie CNS lze dohledat článek, popisující chlapce

s celkovým vývojovým opožděním, epilepsií, pachygyrií a subkortikální „band heterotopii“, u něhož byla prokázána zhruba 0,5 Mb duplikace zasahující gen *CHRNA7* (koordináty duplikace nebyly uvedeny) (Beal 2014). Také Budisteanu et al., 2021 popsali ve své skupině dva pacienty s nálezem na MRI odpovídajícím cystě a Dandy-Walkerově anomálii.

Námi prezentovaný pacient je navíc nositelem druhé aberace – duplikace oblasti Xp22.31, zasahující geny *STS* [OMIM *300747], *PUDP* [OMIM *306480], *VCX* [OMIM *300229], *PNPLA4* [OMIM *300102]. Druhou aberaci u jedinců s duplikací 15q13.3 pozorovali například Gillentine et al., 2017, jež ji detekovali u 5/18 jedinců ze souboru. V souvislosti s rozvojem MCD zůstává role detekované duplikace 15q13.3 nejasná, stejně tak jako možný vliv duplikace Xp22.31.



Obrázek 29: Chromozomová oblast 15q13.1q13.3

Horní část obrázku znázorňuje celý chromozom 15 s jednotlivými chromozomovými pruhy, pod ním následuje seznam a lokalizace jednotlivých genů zvýrazněné oblasti 15q13.1q13.3. Segmentální duplikace definují jednotlivá zlomová místa označená jako BP3 – BP4, D-CHRNA-7-LCR. Spodní část prezentuje nejčastěji detekované duplikace (modrá) a delece (červená) mezi těmito zlomovými místy. Převzato z (Gillentine et al. 2015)

4.2.4.2.3 Delece 7q31.1 (E19039_♀)

Delece, zasahující intron 3, exon 4 a intron 4 genu *IMMP2L* [OMIM *605977], byla detekována u dívky s polymikrogyrií a subkortikální heterotopií. U genu *IMMP2L* není prokázána citlivost na dávku. SNV a delece genu *IMMP2L* byly popsány pouze u několika izolovaných případů pacientů s Tourettovým syndromem (Patel et al. 2011; Bertelsen et al. 2014). Předpokládá se spojitost aberací genu s rozvojem PAS (Baldan et al. 2018; Zhang et al. 2018). Vyřazení z funkce, neboli „knockout“ genu, vede dle studie Gokoolparsadh et al. 2017 k dysregulaci genů zapojených do kontroly buněčné proliferace či vlastního vývoje CNS. V databázi DGV jsou popsány podobné deleční varianty. U jedné pacientky z DECIPHERu (ID:286722) je obdobná deleční varianta, zděděná od otce (fenotyp neuveden), hodnocena jako pravděpodobně patogenní. U této dívky byla popsána epilepsie a makrocefalie. U jiného pacienta z DECIPHERu trpícího ID (případ ID:281462) byla maternálně zděděná delece hodnocena jako pravděpodobně patogenní, nicméně u tohoto pacienta byla prokázána další paternální CNV – duplikace chromozomu 20p12.3, hodnocená jako pravděpodobně patogenní.

4.2.4.2.4 Duplikace 4q12 (E21010_♀)

Duplikace 4q12 byla nalezena u dívky s fokální epilepsií. Jednalo se o paternálně zděděnou aberaci od nepostiženého rodiče. V databázích DGV ani DECIPHER nejsou popsány podobné duplikační varianty. Potenciálně kauzálním genem, u duplikace 4q12, by mohl být gen *KDR* [OMIM *191306], kódující receptor (VEGFR2, Vascular Endothelial Growth Factor Receptor) pro endoteliální růstový faktor (VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor). Bylo prokázáno, že signalizace přes VEGF/VEGFR2 je nezbytná pro vývoj a funkci neuronů u myši (Luck et al. 2019). Citlivost na dávku není u genu známá. V současné době nelze variantu klinicky jasně zařadit a zůstává nadále VUS.

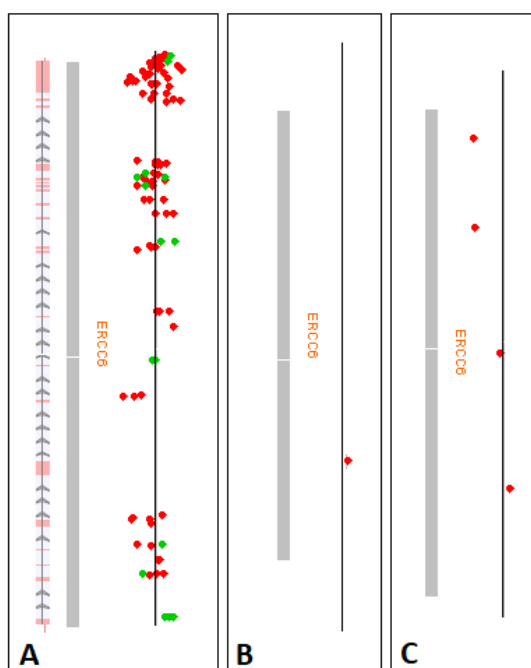
4.2.4.2.5 Delece 1q44 (E21035_♀)

Delece, zasahující 2. - 5. exon genu *SMYD3* [OMIM *608783, NM_0011677402], byla detekována u dívky (E21035) s FCD typu IIb. Varianta byla zděděna od zdravého otce. Gen *SMYD3* kóduje histon-methyl transferázu a hraje důležitou roli v regulaci transkripce. V současné době nejsou aberace genu spojovány s rozvojem žádného onemocnění. Citlivost na dávku není v databázích uvedena. Klinická klasifikace se napříč databázemi rozchází, převažuje však hodnocení jako pravděpodobně benigní. Také v databázi DGV jsou popsány menší či rozsahově větší deleční varianty této oblasti. Celkově se však jedná o vzácnější

varianty s četností 0,0034 % - 0,07 %. Vyšetřením panelu MCD byly u dívky detekovány dvě VUS v genu *CPA6* c.619C>G a c.799G>A, zděděné od zdravé matky. Patogenní SNV v genu *CPA6* byly popsány u pacientů s familiární temporální epilepsií a febrilními křečemi (Salzmann et al. 2012), avšak nikoli ve spojitosti s FCD. Nález těchto SNV tedy nevysvětluje příčinu obtíží probandky, stejně tak detekovaná CNV zasahující gen *SMYD3* zůstává hodnocena jako VUS.

4.3 Custom aCGH

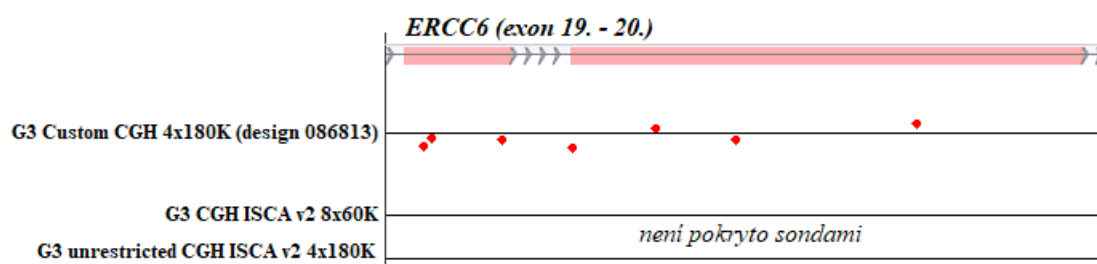
Jedním z cílů práce bylo vytvořit vlastní „custom aCGH“ platformu, která umožní detekci CNV o rozsahu menším než 100 kb a poslouží mj. k ověřování CNV detekovaných metodami MPS. V současné době se využívají k vyšetření pacientů s epilepsií komerčně dostupné platformy SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K a SurePrint CGH ISCA v2 4x180K (viz kapitola 3.2). Tyto platformy jsou prioritně navrženy tak, že většina diagnostických prób čipu je cílena na tzv. ISCA regiony, tedy oblasti genomu, u kterých jsou popsány CNV rizikové pro rozvoj vzácných onemocnění. Diagnostické próby v těchto oblastech genomu jsou rovnoměrně rozptýleny tak, aby pokrývaly definovanou oblast, přičemž pokrytí jednotlivých genů (exonů) zapojených do rozvoje epilepsie je u těchto čipů nedostatečné (Obrázek 30). Používané čipy tedy nejsou schopny detekovat intragenové CNV zasahující jednotlivé exony, které by mohly být kauzální pro rozvoj epileptického fenotypu.



Obrázek 30: Porovnání rozložení sond u komerčních čipů 8x60K a 4x180K a custom array platformy u genu *ERCC6*

Na jednotlivých obrázcích A-C je zobrazena pozice jednotlivých prób na dané platformě: A – platforma custom aCGH; B – SurePrint G3 ISCA 8x60K platforma, C – SurePrint G3 ISCA 4x180K. Barevnost sond označuje specifickost sondy k dané oblasti genomu – červená – specifické sondy, zelená, modrá – méně specifické sondy)

Diagnostické próby custom čipu byly voleny tak aby byly pokryty exony genů testovaných v rámci dvou MPS panelů – *panel DEE a panel MCD*. Samotný čip je koncipován jako platforma 4x180K mapovaná na novou verzi genomu hg38 (human genome type 38). Na rozdíl od komerčně dostupných čipů poskytuje námi navržená platforma pokrytí téměř všech exonů vybraných genů, s cílem pokrýt u co největšího počtu genů jednotlivé exony alespoň třemi diagnostickými próbami (*Obrázek 31*). Takové pokrytí umožní detekci CNV zasahujících i jednotlivé exony, které by na běžných platformách nebyly zachyceny.



Obrázek 31: Rozložení diagnostických sond u exonu 19. – 20. genu *ERCC6*

*V horní části obrázku je zobrazen detail exonů 19 a 20 genu *ERCC6*. První linie zobrazuje rozložení sond (červené tečky) na custom aCGH platformě.*

Prvním krokem pro zavedení platformy do diagnostického algoritmu byla verifikace platformy s využitím DNA od pacientů s již prokázanou CNV. K ověření funkčnosti byly využity vzorky pacientů E21063, E18031, E21039 (*Tabulka 15*). V případech E21063 a E18031 byla detekována rozsahově stejná intragenová aberace, jejíž rozsah odpovídal výsledkům předchozího vyšetření pomocí komerčně dostupné aCGH platformy 8x60K a 4x180K ISCA. V případě vzorku E21063 došlo také ke shodě mezi výsledkem MPS a custom aCGH platformy. U pacientky E21039 se podařilo upřesnit rozsah aberace, kdy byla duplikace rozšířena také na exon 4 a 5, oproti původně zjištěnému zasažení pouze exonů 1–3. Klinická klasifikace všech variant zůstala nezměněna. Nyní bude platforma postupně validována a zaváděna do rutinní diagnostiky.

Tabulka 15: Porovnání nálezů na platformách ISCA 8x60K a Custom 4x180K U vzorku E21063 a 18031 došlo ke shodě mezi výsledkem na obou platformách. U vzorku E21039 byl rozsah duplikace rozšířen až na exony 4–5 (světle šedě podbarvené pole).

Výsledek		
	SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K a 4x180K	SurePrint G3 Custom CGH array 4x180K
E21063	delece 2. - 16. exonu genu <i>ABAT</i> (NM_020686.6)	delece 2. - 16. exonu genu <i>ABAT</i> (NM_020686.6)
E18031	delece 20. - 23. exonu genu <i>NRXN1</i> (NM001330078.2)	delece 20. - 23. exonu genu <i>NRXN1</i> (NM001330078.2)
E21039	duplikace 1. - 3. exonu genu <i>FGF12</i> (NM_004113.6)	duplikace 1. - 5. exonu genu <i>FGF12</i> (NM_004113.6)

5 Závěr

Epilepsie postihuje celosvětově miliony lidí. Rozvoj nových a zdokonalení současných diagnostických metod vedlo v roce 2014 k reklasifikaci příčin epilepsie. Ačkoli nové poznatky ukázaly, že značné množství epilepsií (označovaných do roku 2014 jako „*idiopatické*“) má silný genetický podklad, zůstává u řady pacientů genetická podstata neobjasněna. Cílem práce bylo přispět k poznatkům o genetické etiologii epilepsií a tyto cíle se podařilo splnit.

Metodou aCGH se podařilo objasnit příčinu rozvoje epilepsie u 7,5 % (30/400) jedinců v souboru. Záchyt kauzálních CNV je v souladu s dosud publikovanými světovými studiemi a potvrzuje, že aCGH je stále vhodnou metodou v diagnostice genetických příčin epilepsií. Z naší práce vyplývá, že metoda aCGH je nejefektivnější u pacientů s komplexním NVO (skupina C), u kterých byla příčina epilepsie objasněna v 9,5 % případů. V ostatních skupinách souboru (A, B, D) se podařilo objasnit příčinu u 2,7–5,3 % případů, a v těchto skupinách by aCGH neměla být opomenuta, ale není metodou první volby. Metody MPS se zde jako první volba jeví vhodnější.

Práce přispěla k detekci unikátních CNV, jejichž patogenní potenciál v souvislosti s rozvojem epilepsie je prozatím nejasný (byly klasifikovány jako VUS, třída 3), ale může být do budoucna přehodnocen. Reklasifikace variant s odstupem času je nezbytným krokem, který může vnést do problematiky nové poznatky. Odhalování genetických příčin rozvoje závažných epileptických syndromů umožní do budoucna zavedení cíleného prenatálního testování. Identifikace kauzálních genů a poznatky o jejich funkci mohou do budoucna vést také k vývoji efektivní léčby zahrnující mimo jiné i genovou terapii. Většina identifikovaných VUS v našem souboru byla zděděna od nepostiženého rodiče. Detekce variant u nepostižených členů rodiny potenciální kauzalitu nalezených variant snižuje, ale nevylučuje. Ve všech případech, ať už se jedná o CNV charakteru VUS (třída 3), či varianty pravděpodobně patogení či patogenní (třída 4 a 5), je nutné brát v potaz neúplnou penetranci a variabilní expresivitu.

Celkem deset variant bylo zařazeno do skupiny HFLP. Jednalo se o duplikace a delece oblasti 15q11.2 a duplikace oblasti Xp22.31. Tyto varianty jsou často detekovány jak u pacientů s patologickým fenotypem ve smyslu epilepsie, tak i u zdravé populace. Vzhledem k tomu, že dostupné publikace diskutují jejich možný vliv na rozvoj NVO, nelze tyto varianty uzavřít ani jako patogenní ani jako benigní. Tyto CNV t.č. zůstávají podezřelé, neboť zasahují geny, jejichž změna dávky může způsobit narušení

drah důležitých pro funkci CNS. V budoucnu budou tyto varianty pravděpodobně integrovány do polygenního rizikového skóre, které pomůže odhadnout kumulativní dopad variant s malým efektem na fenotyp pacienta. S velkou pravděpodobností lze předpokládat, že označení HFLP bude moci být přisouzeno i dalším CNV, které budou splňovat daná kritéria. Rozšíření mezinárodně uznávané klasifikace o pojem HFLP je přínosné pro zlepšení odhadu rizika rozvoje NVO zejména v prenatální diagnostice, ve které se metoda aCGH v dnešní době široce uplatňuje. Tato práce, popisem fenotypu pacientů nesoucích varianty označené jako HLFP, k těmto potřebným poznatkům přispívá.

V několika případech bylo upozorněno na možnost spolupůsobení několika aberací v rámci tzv. „*second-hit*“ modelu. „*Second-hit*“ model byl jako možná příčina rozvoje onemocnění označen ve 12 případech. V šesti případech se jednalo o kombinaci dvou či více CNV. U zbylých šesti pacientů byla nalezena kromě CNV také bodová patogenní varianta. V souboru se nejčastěji jednalo o kombinaci CNV oblasti 16p13.3, zasahující gen *RBFOX1*s další CNV či SNV, a o kombinace CNV oblasti Xp22.31 s dalšími aberacemi. Z naší práce vyplývá, že jsou to zejména CNV postihující gen *RBFOX1*, které se často uplatňují v rámci „*second-hit*“ modelu. S přibývajícimi poznatky může rovněž dojít k zařazení těchto variant mezi rizikové faktory v modelu multifaktoriální dědičnosti.

Vyšetření pacientů kombinací metod aCGH a MPS se jeví jako nezbytný krok v diagnostice příčin epilepsie. Nastavení vhodného diagnostického algoritmu, zahrnující celogenomové metody může vést k zefektivnění a urychlení diagnostiky. V souvislosti s tím byl ve spolupráci s neurology a klinickými genetiky optimalizován diagnostický algoritmus, který je postupně implementován do rutinní diagnostiky.

Největší limitací metod MPS je detekce CNV, resp. nemožnost jejich následného ověření. Z tohoto důvodu byla navržena custom aCGH platforma zaměřená na exonové pokrytí genů nejčastěji spojovaných s epilepsií. Funkčnost platformy byla ověřena a dochází k její postupné implementaci do diagnostického algoritmu. Tato metoda prozatím slouží jako konfirmační pro ověření malých CNV detekovaných metodou MPS, v budoucnu by se však mohla stát metodou první volby u pacientů s epilepsií libovolného typu.

Precizní korelace fenotyp – genotyp u pacienta E18056, byla publikována v odborném periodiku formou prvoautorského článku a přispěla k upřesnění fenotypu daného působením nalezené CNV.

Souhrnem lze konstatovat, že cíle práce byly naplněny,

6 Literatura

- ABRAMOV, D., GUIBERSON N.G.L., BURRÉ J. STXBP1 encephalopathies: Clinical spectrum, disease mechanisms, and therapeutic strategies. *Journal of neurochemistry*. 2020, s. 10.1111/jnc.15120. ISSN 0022-3042. DOI: 10.1111/jnc.15120
- ADAMS, R. H., BETZ H., PÜSCHEL W.A., . A novel class of murine semaphorins with homology to thrombospondin is differentially expressed during early embryogenesis. *Mechanisms of Development*. 1996, roč. 57, č. 1, s. 33–45. ISSN 0925-4773. DOI: 10.1016/0925-4773(96)00525-4
- ADDIS, Laura et al. Microdeletions of ELP4 Are Associated with Language Impairment, Autism Spectrum Disorder, and Mental Retardation. *Human Mutation*. 2015, roč. 36, č. 9, s. 842–850. ISSN 1098-1004. DOI: 10.1002/humu.22816
- ADDIS, Laura et al. Analysis of rare copy number variation in absence epilepsies. *Neurology. Genetics*. 2016, roč. 2, č. 2, s. e56. ISSN 2376-7839. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000056
- ADDIS, Laura et al. Identification of new risk factors for rolandic epilepsy: CNV at Xp22.31 and alterations at cholinergic synapses. *Journal of Medical Genetics*. 2018, roč. 55, č. 9, s. 607–616. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmedgenet-2018-105319
- ADRA, C. N. et al. Human ARHGDIG, a GDP-dissociation inhibitor for Rho proteins: genomic structure, sequence, expression analysis, and mapping to chromosome 16p13.3. *Genomics*. 1998, roč. 53, č. 1, s. 104–109. ISSN 0888-7543. DOI: 10.1006/geno.1998.5482
- AKCAKAYA, Nihan Hande et al. De novo 8p23.1 deletion in a patient with absence epilepsy. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*. 2017, roč. 19, č. 2, s. 217–221. ISSN 1950-6945. DOI: 10.1684/epd.2017.0906
- ALBIZUA, Igor et al. Descriptive analysis of seizures and comorbidities associated with fragile X syndrome. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2022, roč. 10, č. 8, s. e2001. ISSN 2324-9269. DOI: 10.1002/mgg3.2001
- ALCÁNTARA, S. et al. Regional and cellular patterns of reelin mRNA expression in the forebrain of the developing and adult mouse. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. 1998, roč. 18, č. 19, s. 7779–7799. ISSN 0270-6474.
- ALKALAF, Heeba Y. et al. Epilepsy, neuropsychiatric phenotypes, neuroimaging findings, and genotype-neurophenotype correlation in 22q11.2 deletion syndrome. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*. 2020, roč. 25, č. 4, s. 287–291. ISSN 1319-6138. DOI: 10.17712/nsj.2020.4.20200045
- ALKURAYA, Fowzan S. et al. Human mutations in NDE1 cause extreme microcephaly with lissencephaly [corrected]. *American Journal of Human Genetics*. 2011, roč. 88, č. 5, s. 536–547. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2011.04.003
- AL-MEHMADI, Sameer et al. FHF1 (FGF12) epileptic encephalopathy. *Neurology. Genetics*. 2016, roč. 2, č. 6, s. e115. ISSN 2376-7839. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000115
- ANDRADE, Danielle M. et al. Hippocampal malrotation is associated with chromosome 22q11.2 microdeletion. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*. 2013, roč. 40, č. 5, s. 652–656. ISSN 0317-1671. DOI: 10.1017/s0317167100014876
- ANDRIEUX, Joris et al. Characterization by array-CGH of an interstitial de novo tandem 6p21.2p22.1 duplication in a boy with epilepsy and developmental delay. *European*

- Journal of Medical Genetics*. 2008, roč. 51, č. 4, s. 373–381. ISSN 1769-7212.
DOI: 10.1016/j.ejmg.2008.02.010
- ARICAN, Pinar et al. A De Novo Xp11.23 Duplication in a Girl with a Severe Phenotype: Expanding the Clinical Spectrum. *Journal of Pediatric Genetics*. 2018, roč. 7, č. 2, s. 74–77. ISSN 2146-4596. DOI: 10.1055/s-0037-1612598
- ARMIJO, J. A. et al. Ion channels and epilepsy. *Current Pharmaceutical Design*. 2005, roč. 11, č. 15, s. 1975–2003. ISSN 1381-6128. DOI: 10.2174/1381612054021006
- ARULSAMY, Alina a Mohd Farooq SHAIKH. Epilepsy-associated comorbidities among adults: A plausible therapeutic role of gut microbiota. *Neurobiology of Disease*. 2022, roč. 165, s. 105648. ISSN 1095-953X. DOI: 10.1016/j.nbd.2022.105648
- AUVIN, Stéphane et al. Systematic review of the screening, diagnosis, and management of ADHD in children with epilepsy. Consensus paper of the Task Force on Comorbidities of the ILAE Pediatric Commission. *Epilepsia*. 2018, roč. 59, č. 10, s. 1867–1880. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.14549
- AUWETER, Sigrid D. et al. Molecular basis of RNA recognition by the human alternative splicing factor Fox-1. *The EMBO journal*. 2006, roč. 25, č. 1, s. 163–173. ISSN 0261-4189. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600918
- BABCOCK, Melanie et al. Shuffling of genes within low-copy repeats on 22q11 (LCR22) by Alu-mediated recombination events during evolution. *Genome Research*. 2003, roč. 13, č. 12, s. 2519–2532. ISSN 1088-9051. DOI: 10.1101/gr.1549503
- BAHI-BUISSON, Nadia et al. The wide spectrum of tubulinopathies: what are the key features for the diagnosis? *Brain: A Journal of Neurology*. 2014, roč. 137, č. Pt 6, s. 1676–1700. ISSN 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awu082
- BACHMANN-GAGESCU, Ruxandra et al. Recurrent 200-kb deletions of 16p11.2 that include the SH2B1 gene are associated with developmental delay and obesity. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2010, roč. 12, č. 10, s. 641–647. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181ef4286
- BAILEY, J. A. et al. Segmental duplications: organization and impact within the current human genome project assembly. *Genome Research*. 2001, roč. 11, č. 6, s. 1005–1017. ISSN 1088-9051. DOI: 10.1101/gr.1871r
- BAILEY, Jeffrey A. a Evan E. EICHLER. Primate segmental duplications: crucibles of evolution, diversity and disease. *Nature Reviews. Genetics*. 2006, roč. 7, č. 7, s. 552–564. ISSN 1471-0056. DOI: 10.1038/nrg1895
- BAILEY, Jeffrey A. et al. Recent segmental duplications in the human genome. *Science (New York, N.Y.)*. 2002, roč. 297, č. 5583, s. 1003–1007. ISSN 1095-9203. DOI: 10.1126/science.1072047
- BALDAN, Federica et al. Genomic Deletion Involving the IMMP2L Gene in Two Cases of Autism Spectrum Disorder. *Cytogenetic and Genome Research*. 2018, roč. 154, č. 4, s. 196–200. ISSN 1424-859X. DOI: 10.1159/000489001
- BALDASSARI, Sara et al. Dissecting the genetic basis of focal cortical dysplasia: a large cohort study. *Acta Neuropathologica*. 2019, roč. 138, č. 6, s. 885–900. ISSN 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-019-02061-5
- BARCIA, Giulia et al. De novo gain-of-function KCNT1 channel mutations cause malignant migrating partial seizures of infancy. *Nature Genetics*. 2012, roč. 44, č. 11, s. 1255–1259. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.2441
- BARKOVICH, A. James et al. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update 2012. *Brain: A Journal of Neurology*. 2012, roč. 135, č. Pt 5, s. 1348–1369. ISSN 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/aws019

- BARTNIK, Magdalena et al. Application of array comparative genomic hybridization in 102 patients with epilepsy and additional neurodevelopmental disorders. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2012, roč. 159B, č. 7, s. 760–771. ISSN 1552-485X. DOI: 10.1002/ajmg.b.32081
- BATTAGLIA, Agatino et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *European Journal of Paediatric Neurology*. 2013, roč. 17, č. 6, s. 589–599. ISSN 1090-3798, 1532-2130. DOI: 10.1016/j.ejpn.2013.04.010
- BAULAC, S. et al. First genetic evidence of GABA(A) receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the gamma2-subunit gene. *Nature Genetics*. 2001, roč. 28, č. 1, s. 46–48. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng0501-46
- BEAL, Jules C. Case report: Neuronal migration disorder associated with chromosome 15q13.3 duplication in a boy with autism and seizures. *Journal of Child Neurology*. 2014, roč. 29, č. 12, s. NP186-188. ISSN 1708-8283. DOI: 10.1177/0883073813510356
- BEGHI, Ettore. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020, roč. 54, č. 2, s. 185–191. ISSN 0251-5350, 1423-0208. DOI: 10.1159/000503831
- BÉNA, Frédérique et al. Molecular and clinical characterization of 25 individuals with exonic deletions of NRXN1 and comprehensive review of the literature. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2013, roč. 162B, č. 4, s. 388–403. ISSN 1552-485X. DOI: 10.1002/ajmg.b.32148
- BENNETT, Mark K., Nicole CALAKOS a Richard H. SCHELLER. Syntaxin: A Synaptic Protein Implicated in Docking of Synaptic Vesicles at Presynaptic Active Zones. *Science*. 1992, roč. 257, č. 5067, s. 255–259. DOI: 10.1126/science.1321498
- BERG, Anne T. a John J. MILLICHAP. The 2010 revised classification of seizures and epilepsy. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. 2013, roč. 19, č. 3 Epilepsy, s. 571–597. ISSN 1538-6899. DOI: 10.1212/01.CON.0000431377.44312.9e
- BERKOVIC, S. F. et al. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Annals of Neurology*. 1998, roč. 43, č. 4, s. 435–445. ISSN 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.410430405
- BERKOVIC, S.F. et al. Human epilepsies: interaction of genetic and acquired factors. *Trends in Neurosciences [Scopus]*. 2006, roč. 29, č. 7, s. 391–397. DOI: 10.1016/j.tins.2006.05.009
- BERNIER, Raphael et al. Clinical phenotype of the recurrent 1q21.1 copy-number variant. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2016, roč. 18, č. 4, s. 341–349. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1038/gim.2015.78
- BERRY-KRAVIS, Elizabeth et al. Seizures in Fragile X Syndrome: Associations and Longitudinal Analysis of a Large Clinic-Based Cohort. *Frontiers in Pediatrics*. 2021, roč. 9, s. 736255. ISSN 2296-2360. DOI: 10.3389/fped.2021.736255
- BERTELTSEN, Birgitte et al. Chromosomal rearrangements in Tourette syndrome: implications for identification of candidate susceptibility genes and review of the literature. *Neurogenetics*. 2013, roč. 14, č. 3–4, s. 197–203. ISSN 1364-6753. DOI: 10.1007/s10048-013-0372-y
- BERTELTSEN, Birgitte et al. Intragenic deletions affecting two alternative transcripts of the IMMP2L gene in patients with Tourette syndrome. *European journal of human genetics: EJHG*. 2014, roč. 22, č. 11, s. 1283–1289. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2014.24

- BEUNDERS, Gea et al. A detailed clinical analysis of 13 patients with AUTS2 syndrome further delineates the phenotypic spectrum and underscores the behavioural phenotype. *Journal of Medical Genetics*. 2016, roč. 53, č. 8, s. 523–532. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103601
- BEUNDERS, Gea et al. Exonic deletions in AUTS2 cause a syndromic form of intellectual disability and suggest a critical role for the C terminus. *American Journal of Human Genetics*. 2013, roč. 92, č. 2, s. 210–220. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.12.011
- BIERVERT, C. et al. A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. *Science (New York, N.Y.)*. 1998, roč. 279, č. 5349, s. 403–406. ISSN 0036-8075. DOI: 10.1126/science.279.5349.403
- BIERVERT, C. a O. K. STEINLEIN. Structural and mutational analysis of KCNQ2, the major gene locus for benign familial neonatal convulsions. *Human Genetics*. 1999, roč. 104, č. 3, s. 234–240. ISSN 0340-6717. DOI: 10.1007/pl00008713
- BILL, Brent R. et al. Orchestration of neurodevelopmental programs by RBFOX1: implications for autism spectrum disorder. *International Review of Neurobiology*. 2013, roč. 113, s. 251–267. ISSN 2162-5514. DOI: 10.1016/B978-0-12-418700-9.00008-3
- BLACKMON, Karen et al. Focal Cortical Anomalies and Language Impairment in 16p11.2 Deletion and Duplication Syndrome. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*. 2018, roč. 28, č. 7, s. 2422–2430. ISSN 1460-2199. DOI: 10.1093/cercor/bhx143
- BLAZEJEWSKI, Sara M. et al. Neurodevelopmental Genetic Diseases Associated With Microdeletions and Microduplications of Chromosome 17p13.3. *Frontiers in Genetics*. 2018, roč. 9, s. 80. ISSN 1664-8021. DOI: 10.3389/fgene.2018.00080
- BOCKAERT, Joël a Philippe MARIN. mTOR in Brain Physiology and Pathologies. *Physiological Reviews*. 2015, roč. 95, č. 4, s. 1157–1187. ISSN 0031-9333, 1522-1210. DOI: 10.1152/physrev.00038.2014
- BONATI, Maria Teresa et al. 9q34.3 microduplications lead to neurodevelopmental disorders through EHMT1 overexpression. *Neurogenetics*. 2019, roč. 20, č. 3, s. 145–154. ISSN 1364-6753. DOI: 10.1007/s10048-019-00581-6
- BORLOT, Felipe et al. Prevalence of Pathogenic Copy Number Variation in Adults With Pediatric-Onset Epilepsy and Intellectual Disability. *JAMA neurology*. 2017, roč. 74, č. 11, s. 1301–1311. ISSN 2168-6157. DOI: 10.1001/jamaneurol.2017.1775
- BOYCE, Danielle et al. Epilepsy and related challenges in children with COL4A1 and COL4A2 mutations: A Gould syndrome patient registry. *Epilepsy & Behavior: E&B*. 2021, roč. 125, s. 108365. ISSN 1525-5069. DOI: 10.1016/j.yebeh.2021.108365
- BRENNAN, Cameron et al. High-resolution global profiling of genomic alterations with long oligonucleotide microarray. *Cancer Research*. 2004, roč. 64, č. 14, s. 4744–4748. ISSN 0008-5472. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1241
- BREUSS, Martin et al. Mutations in the β -tubulin gene TUBB5 cause microcephaly with structural brain abnormalities. *Cell Reports*. 2012, roč. 2, č. 6, s. 1554–1562. ISSN 2211-1247. DOI: 10.1016/j.celrep.2012.11.017
- BRINCIOTTI, Mario et al. Epilepsy phenotype in patients with Xp22.31 microduplication. *Epilepsy & Behavior Case Reports*. 2019, roč. 11, s. 31–34. ISSN 2213-3232. DOI: 10.1016/j.ebcr.2018.10.004
- BRUNKLAUS, Andreas et al. Biological concepts in human sodium channel epilepsies and their relevance in clinical practice. *Epilepsia*. 2020, roč. 61, č. 3, s. 387–399. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.16438

- BRUNO, Damien L. et al. Further molecular and clinical delineation of co-locating 17p13.3 microdeletions and microduplications that show distinctive phenotypes. *Journal of Medical Genetics*. 2010, roč. 47, č. 5, s. 299–311. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmg.2009.069906
- BUDISTEANU, Magdalena et al. The Phenotypic Spectrum of 15q13.3 Region Duplications: Report of 5 Patients. *Genes*. 2021, roč. 12, č. 7, s. 1025. ISSN 2073-4425. DOI: 10.3390/genes12071025
- BURNSIDE, Rachel D. 22q11.21 Deletion Syndromes: A Review of Proximal, Central, and Distal Deletions and Their Associated Features. *Cytogenetic and Genome Research*. 2015, roč. 146, č. 2, s. 89–99. ISSN 1424-859X. DOI: 10.1159/000438708
- BURNSIDE, Rachel D. et al. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11.2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. *Human Genetics*. 2011, roč. 130, č. 4, s. 517–528. ISSN 1432-1203. DOI: 10.1007/s00439-011-0970-4
- BUTLER, M. G. Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. *Journal of intellectual disability research: JIDR*. 2017, roč. 61, č. 6, s. 568–579. ISSN 1365-2788. DOI: 10.1111/jir.12382
- BUTLER, Merlin G. Magnesium Supplement and the 15q11.2 BP1–BP2 Microdeletion (Burnside–Butler) Syndrome: A Potential Treatment? *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, roč. 20, č. 12, s. 2914. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms20122914
- BUYSSE, Karen et al. Challenges for CNV interpretation in clinical molecular karyotyping: lessons learned from a 1001 sample experience. *European Journal of Medical Genetics*. 2009, roč. 52, č. 6, s. 398–403. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2009.09.002
- CALABRETTA, B. et al. Genome instability in a region of human DNA enriched in Alu repeat sequences. *Nature*. 1982, roč. 296, č. 5854, s. 219–225. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/296219a0
- CAPRA, Valeria et al. Identification of a rare 17p13.3 duplication including the BHLHA9 and YWHAE genes in a family with developmental delay and behavioural problems. *BMC medical genetics*. 2012, roč. 13, s. 93. ISSN 1471-2350. DOI: 10.1186/1471-2350-13-93
- CARDOSO, C. et al. Periventricular heterotopia, mental retardation, and epilepsy associated with 5q14.3-q15 deletion. *Neurology*. 2009, roč. 72, č. 9, s. 784–792. ISSN 1526-632X. DOI: 10.1212/01.wnl.0000336339.08878.2d
- CARDOSO, Carlos et al. Refinement of a 400-kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller-Dieker syndrome, and other phenotypes secondary to deletions of 17p13.3. *American Journal of Human Genetics*. 2003, roč. 72, č. 4, s. 918–930. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/374320
- CARLSSON, Torkel et al. Early environmental risk factors for neurodevelopmental disorders - a systematic review of twin and sibling studies. *Development and Psychopathology*. 2020, s. 1–48. ISSN 1469-2198. DOI: 10.1017/S0954579420000620
- CARRASCOSA-ROMERO, M. Carmen et al. [X-chromosome-linked ichthyosis associated to epilepsy, hyperactivity, autism and mental retardation, due to the Xp22.31 microdeletion]. *Revista De Neurologia*. 2012, roč. 54, č. 4, s. 241–248. ISSN 1576-6578.
- CARTER, Nigel P. Methods and strategies for analyzing copy number variation using DNA microarrays. *Nature Genetics*. 2007, roč. 39, č. 7 Suppl, s. S16-21. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng2028

- CARVALHO, B. et al. High resolution microarray comparative genomic hybridisation analysis using spotted oligonucleotides. *Journal of Clinical Pathology*. 2004, roč. 57, č. 6, s. 644–646. ISSN 0021-9746. DOI: 10.1136/jcp.2003.013029
- CARVILL, Gemma L. et al. Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nature Genetics*. 2013, roč. 45, č. 7, s. 825–830. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.2646
- CASTANZA, Anthony S. et al. AUTS2 Regulates RNA Metabolism and Dentate Gyrus Development in Mice. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*. 2021, roč. 31, č. 10, s. 4808–4824. ISSN 1460-2199. DOI: 10.1093/cercor/bhab124
- CASTRONOVO, Chiara et al. Complex de novo chromosomal rearrangement at 15q11-q13 involving an intrachromosomal triplication in a patient with a severe neuropsychological phenotype: clinical report and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2015, roč. 167A, č. 1, s. 221–230. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.36815
- CELLINI, Elena et al. Periventricular heterotopia with white matter abnormalities associated with 6p25 deletion. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2012, roč. 158A, č. 7, s. 1793–1797. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.35416
- CLAES, L. et al. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *American Journal of Human Genetics*. 2001, roč. 68, č. 6, s. 1327–1332. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/320609
- COE, Bradley P., Santhosh GIRIRAJAN a Evan E. EICHLER. A genetic model for neurodevelopmental disease. *Current Opinion in Neurobiology*. 2012, roč. 22, č. 5, s. 829–836. ISSN 1873-6882. DOI: 10.1016/j.conb.2012.04.007
- COOPER, David N. et al. Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. *Human Genetics*. 2013, roč. 132, č. 10, s. 1077–1130. ISSN 1432-1203. DOI: 10.1007/s00439-013-1331-2
- COOPER, Gregory M. et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nature Genetics*. 2011, roč. 43, č. 9, s. 838–846. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.909
- COPPING, Nycole A et al. Neuronal overexpression of Ube3a isoform 2 causes behavioral impairments and neuroanatomical pathology relevant to 15q11.2-q13.3 duplication syndrome. *Human Molecular Genetics*. 2017, roč. 26, č. 20, s. 3995–4010. ISSN 0964-6906. DOI: 10.1093/hmg/ddx289
- CORBETT, Mark A. et al. Intronic ATTTC repeat expansions in STARD7 in familial adult myoclonic epilepsy linked to chromosome 2. *Nature Communications*. 2019, roč. 10, č. 1, s. 4920. ISSN 2041-1723. DOI: 10.1038/s41467-019-12671-y
- CORNELIUS, Nanna et al. A mosaic small supernumerary marker chromosome 17 in a patient with Tourette syndrome, ADHD and intellectual disability: A case story and review of the literature. *Psychiatry Research*. 2015, roč. 228, č. 1, s. 179–181. ISSN 01651781. DOI: 10.1016/j.psychres.2015.03.022
- CORNELL, Brett et al. Regulation of neuronal morphogenesis by 14-3-3epsilon (Ywhae) via the microtubule binding protein, doublecortin. *Human Molecular Genetics*. 2016, roč. 25, č. 20, s. 4405–4418. ISSN 0964-6906. DOI: 10.1093/hmg/ddw270
- COSEMANS, Nele et al. The clinical relevance of intragenic NRXN1 deletions. *Journal of Medical Genetics*. 2020, roč. 57, č. 5, s. 347–355. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmedgenet-2019-106448
- COSSETTE, Patrick et al. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nature Genetics*. 2002, roč. 31, č. 2, s. 184–189. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng885

- COURSIMAUULT, Juliette et al. MYT1L-associated neurodevelopmental disorder: description of 40 new cases and literature review of clinical and molecular aspects. *Human Genetics*. 2021. ISSN 1432-1203. DOI: 10.1007/s00439-021-02383-z
- DE LA COURT, A. et al. Prevalence of epilepsy in the elderly: the Rotterdam Study. *Epilepsia*. 1996, roč. 37, č. 2, s. 141–147. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1996.tb00005.x
- COX, Devin M. a Merlin G. BUTLER. The 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion syndrome: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, roč. 16, č. 2, s. 4068–4082. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms16024068
- CREPPE, Catherine et al. Elongator controls the migration and differentiation of cortical neurons through acetylation of alpha-tubulin. *Cell*. 2009, roč. 136, č. 3, s. 551–564. ISSN 1097-4172. DOI: 10.1016/j.cell.2008.11.043
- CURRY, Cynthia J. et al. The duplication 17p13.3 phenotype: analysis of 21 families delineates developmental, behavioral and brain abnormalities, and rare variant phenotypes. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2013, roč. 161A, č. 8, s. 1833–1852. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.35996
- DABELL, Mindy Preston et al. Investigation of NRXN1 deletions: clinical and molecular characterization. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2013, roč. 161A, č. 4, s. 717–731. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.35780
- DAGAR, Anjali a Tatiana FALCONE. Psychiatric Comorbidities in Pediatric Epilepsy. *Current Psychiatry Reports*. 2020, roč. 22, č. 12, s. 77. ISSN 1535-1645. DOI: 10.1007/s11920-020-01195-8
- D'ARCA, Domenico et al. Huwe1 ubiquitin ligase is essential to synchronize neuronal and glial differentiation in the developing cerebellum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010, roč. 107, č. 13, s. 5875–5880. ISSN 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0912874107
- D'ARRIGO, Stefano et al. The Diagnostic Yield of Array Comparative Genomic Hybridization Is High Regardless of Severity of Intellectual Disability/Developmental Delay in Children. *Journal of Child Neurology*. 2016, roč. 31, č. 6, s. 691–699. ISSN 0883-0738. DOI: 10.1177/0883073815613562
- DAS, D. K. et al. Genetic and morphological features of human iPSC-derived neurons with chromosome 15q11.2 (BP1-BP2) deletions. *Molecular Neuropsychiatry*. 2015, roč. 1, č. 2, s. 116–123. ISSN 2296-9209. DOI: 10.1159/000430916
- DE FERRARI, G. V. a R. T. MOON. The ups and downs of Wnt signaling in prevalent neurological disorders. *Oncogene*. 2006, roč. 25, č. 57, s. 7545–7553. ISSN 0950-9232. DOI: 10.1038/sj.onc.1210064
- DE ROCKER, Nina et al. Refinement of the critical 2p25.3 deletion region: the role of MYT1L in intellectual disability and obesity. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2015, roč. 17, č. 6, s. 460–466. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1038/gim.2014.124
- DE WOLF, Veerle et al. Genetic counseling for susceptibility loci and neurodevelopmental disorders: the del15q11.2 as an example. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2013, roč. 161A, č. 11, s. 2846–2854. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.36209
- DEPIENNE, C. et al. Familial cortical myoclonic tremor with epilepsy: the third locus (FCMTE3) maps to 5p. *Neurology*. 2010, roč. 74, č. 24, s. 2000–2003. ISSN 1526-632X. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181e396a8
- DESHPANDE, Aditi a Lauren A. WEISS. Recurrent reciprocal copy number variants: Roles and rules in neurodevelopmental disorders. *Developmental Neurobiology*. 2018, roč. 78, č. 5, s. 519–530. ISSN 1932-846X. DOI: 10.1002/dneu.22587

- DIMASSI, Sarra et al. A subset of genomic alterations detected in rolandic epilepsies contains candidate or known epilepsy genes including GRIN2A and PRRT2. *Epilepsia*. 2014, roč. 55, č. 2, s. 370–378. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.12502
- DIXIT, A. et al. 7q11.23 Microduplication: a recognizable phenotype. *Clinical Genetics*. 2013, roč. 83, č. 2, s. 155–161. ISSN 1399-0004. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2012.01862.x
- DOBYNS, William B. et al. Consistent chromosome abnormalities identify novel polymicrogyria loci in 1p36.3, 2p16.1-p23.1, 4q21.21-q22.1, 6q26-q27, and 21q2. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2008, roč. 146A, č. 13, s. 1637–1654. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.32293
- DOI, Miyuki, Noriyoshi USUI a Shoichi SHIMADA. Prenatal Environment and Neurodevelopmental Disorders. *Frontiers in Endocrinology*. 2022, roč. 13, s. 860110. ISSN 1664-2392. DOI: 10.3389/fendo.2022.860110
- DÖRING, Jan Henje et al. The Phenotypic Spectrum of PRRT2-Associated Paroxysmal Neurologic Disorders in Childhood. *Biomedicines*. 2020, roč. 8, č. 11, s. 456. ISSN 2227-9059. DOI: 10.3390/biomedicines8110456
- EATON, Christopher B. et al. Epilepsy and seizures in young people with 22q11.2 deletion syndrome: Prevalence and links with other neurodevelopmental disorders. *Epilepsia*. 2019, roč. 60, č. 5, s. 818–829. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.14722
- EICHLER, E. E., N. ARCHIDIACONO a M. ROCCHI. CAGGG repeats and the pericentromeric duplication of the hominoid genome. *Genome Research*. 1999, roč. 9, č. 11, s. 1048–1058. ISSN 1088-9051. DOI: 10.1101/gr.9.11.1048
- EICHLER, E. E. et al. Duplication of a gene-rich cluster between 16p11.1 and Xq28: a novel pericentromeric-directed mechanism for paralogous genome evolution. *Human Molecular Genetics*. 1996, roč. 5, č. 7, s. 899–912. ISSN 0964-6906. DOI: 10.1093/hmg/5.7.899
- EMANUEL, B. S. a T. H. SHAIKH. Segmental duplications: an „expanding“ role in genomic instability and disease. *Nature Reviews. Genetics*. 2001, roč. 2, č. 10, s. 791–800. ISSN 1471-0056. DOI: 10.1038/35093500
- ENGEL, J. a 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, roč. 42, č. 6, s. 796–803. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1046/j.1528-1157.2001.10401.x
- ENSENAUER, Regina E. et al. Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen patients. *American Journal of Human Genetics*. 2003, roč. 73, č. 5, s. 1027–1040. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/378818
- ERBELI, Florina, Marianne RICE a Silvia PARACCHINI. Insights into Dyslexia Genetics Research from the Last Two Decades. *Brain Sciences*. 2021, roč. 12, č. 1, s. 27. ISSN 2076-3425. DOI: 10.3390/brainsci12010027
- ESCAYG, A. et al. A novel SCN1A mutation associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus--and prevalence of variants in patients with epilepsy. *American Journal of Human Genetics*. 2001, roč. 68, č. 4, s. 866–873. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/319524
- ESCAYG, A. et al. Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nature Genetics*. 2000, roč. 24, č. 4, s. 343–345. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/74159

- ESPLIN, Edward D. et al. Nine patients with Xp22.31 microduplication, cognitive deficits, seizures, and talipes anomalies. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2014, roč. 164, č. 8, s. 2097–2103. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.36598
- FALLIN, M. Daniele et al. Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios. *American Journal of Human Genetics*. 2005, roč. 77, č. 6, s. 918–936. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/497703
- FAN, Yanjie et al. Chromosomal microarray analysis in developmental delay and intellectual disability with comorbid conditions. *BMC Medical Genomics*. 2018, roč. 11, č. 1, s. 49. ISSN 1755-8794. DOI: 10.1186/s12920-018-0368-4
- FAN, Zhen, Xiaowei CHEN a Runsheng CHEN. Transcriptome-wide analysis of TDP-43 binding small RNAs identifies miR-NID1 (miR-8485), a novel miRNA that represses NRXN1 expression. *Genomics*. 2014, roč. 103, č. 1, s. 76–82. ISSN 1089-8646. DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.06.006
- FANCIULLI, Manuela et al. Copy number variations and susceptibility to lateral temporal epilepsy: a study of 21 pedigrees. *Epilepsia*. 2014, roč. 55, č. 10, s. 1651–1658. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.12767
- FERLAND, Russell J. et al. Periventricular nodular heterotopia and Williams syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2006, roč. 140, č. 12, s. 1305–1311. ISSN 1552-4825. DOI: 10.1002/ajmg.a.31259
- FERLAND, Russell J. et al. Characterization of Rho-GDIgamma and Rho-GDIalpha mRNA in the developing and mature brain with an analysis of mice with targeted deletions of Rho-GDIgamma. *Brain Research*. 2005, roč. 1054, č. 1, s. 9–21. ISSN 0006-8993. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.04.088
- FEUK, Lars, Andrew R. CARSON a Stephen W. SCHERER. Structural variation in the human genome. *Nature Reviews. Genetics*. 2006, roč. 7, č. 2, s. 85–97. ISSN 1471-0056. DOI: 10.1038/nrg1767
- FIEGLER, Heike et al. DNA microarrays for comparative genomic hybridization based on DOP-PCR amplification of BAC and PAC clones. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 2003, roč. 36, č. 4, s. 361–374. ISSN 1045-2257. DOI: 10.1002/gcc.10155
- FIEST, Kirsten M. et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*. 2017, roč. 88, č. 3, s. 296–303. ISSN 0028-3878, 1526-632X. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003509
- FILGES, Isabel et al. Brain MRI abnormalities and spectrum of neurological and clinical findings in three patients with proximal 16p11.2 microduplication. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2014, roč. 164A, č. 8, s. 2003–2012. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.36605
- FISHER, Robert S. et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014, roč. 55, č. 4, s. 475–482. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.12550
- FISHER, Robert S. et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017, roč. 58, č. 4, s. 522–530. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.13670
- FISHER, Robert S. et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005, roč. 46, č. 4, s. 470–472. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x
- FLORIAN, Rahel T. et al. Unstable TTTTA/TTTCA expansions in MARCH6 are associated with Familial Adult Myoclonic Epilepsy type 3. *Nature*

- Communications*. 2019, roč. 10, č. 1, s. 4919. ISSN 2041-1723.
DOI: 10.1038/s41467-019-12763-9
- FORSGRÉN, L. et al. The epidemiology of epilepsy in Europe - a systematic review. *European Journal of Neurology*. 2005, roč. 12, č. 4, s. 245–253. ISSN 1351-5101.
DOI: 10.1111/j.1468-1331.2004.00992.x
- FRATER, J. L. et al. Surgical pathologic findings of extratemporal-based intractable epilepsy: a study of 133 consecutive resections. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2000, roč. 124, č. 4, s. 545–549. ISSN 0003-9985.
DOI: 10.5858/2000-124-0545-SPFOEB
- FROYEN, Guy et al. Copy-number gains of HUWE1 due to replication- and recombination-based rearrangements. *American Journal of Human Genetics*. 2012, roč. 91, č. 2, s. 252–264. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.06.010
- FROYEN, Guy et al. Submicroscopic duplications of the hydroxysteroid dehydrogenase HSD17B10 and the E3 ubiquitin ligase HUWE1 are associated with mental retardation. *American Journal of Human Genetics*. 2008, roč. 82, č. 2, s. 432–443. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2007.11.002
- FURROW, Aubry et al. Duplication of the STS region in males is a benign copy-number variant. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2011, roč. 155A, č. 8, s. 1972–1975. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.33985
- GALIZIA, Elizabeth C. et al. Array comparative genomic hybridization: results from an adult population with drug-resistant epilepsy and co-morbidities. *European Journal of Medical Genetics*. 2012, roč. 55, č. 5, s. 342–348. ISSN 1878-0849.
DOI: 10.1016/j.ejmg.2011.12.011
- GARG, Prekshi, Farrukh JAMAL a Prachi SRIVASTAVA. Deciphering the role of precursor miR-12136 and miR-8485 in the progression of intellectual disability (ID). *IBRO neuroscience reports*. 2022, roč. 13, s. 393–401. ISSN 2667-2421.
DOI: 10.1016/j.ibneur.2022.10.005
- GASTAUT, H. Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1969, roč. 10, s. Suppl:2-13. ISSN 0013-9580.
- GEHMAN, Lauren T. et al. The splicing regulator Rbfox1 (A2BP1) controls neuronal excitation in the mammalian brain. *Nature Genetics*. 2011, roč. 43, č. 7, s. 706–711. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.841
- GILES, Andrew C. a Brock GRILL. Roles of the HUWE1 ubiquitin ligase in nervous system development, function and disease. *Neural Development*. 2020, roč. 15, č. 1, s. 6. ISSN 1749-8104. DOI: 10.1186/s13064-020-00143-9
- GILLENLINE, M. A. et al. The Cognitive and Behavioral Phenotypes of Individuals with CHRNA7 Duplications. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2017, roč. 47, č. 3, s. 549–562. ISSN 1573-3432. DOI: 10.1007/s10803-016-2961-8
- GILLENLINE, Madelyn A. a Christian P. SCHAAF. The human clinical phenotypes of altered CHRNA7 copy number. *Biochemical Pharmacology*. 2015, roč. 97, č. 4, s. 352–362. ISSN 1873-2968. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.06.012
- GIORDA, Roberto et al. Complex segmental duplications mediate a recurrent dup(X)(p11.22-p11.23) associated with mental retardation, speech delay, and EEG anomalies in males and females. *American Journal of Human Genetics*. 2009, roč. 85, č. 3, s. 394–400. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.08.001
- GLEESON, J. G. et al. Doublecortin, a brain-specific gene mutated in human X-linked lissencephaly and double cortex syndrome, encodes a putative signaling protein. *Cell*. 1998, roč. 92, č. 1, s. 63–72. ISSN 0092-8674. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80899-5

- GOHLKE, B. C. et al. Interstitial deletion in Xp22.3 is associated with X linked ichthyosis, mental retardation, and epilepsy. *Journal of Medical Genetics*. 2000, roč. 37, č. 8, s. 600–602. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmg.37.8.600
- GOKOOLPARSADH, Akira et al. Transcriptional response to mitochondrial protease IMMP2L knockdown in human primary astrocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017, roč. 482, č. 4, s. 1252–1258. ISSN 1090-2104. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.12.024
- GRAF, Ethan R. et al. Neurexins induce differentiation of GABA and glutamate postsynaptic specializations via neuroligins. *Cell*. 2004, roč. 119, č. 7, s. 1013–1026. ISSN 0092-8674. DOI: 10.1016/j.cell.2004.11.035
- GROPAN, Andrea L. a Mark L. BATSHAW. Epigenetics, copy number variation, and other molecular mechanisms underlying neurodevelopmental disabilities: new insights and diagnostic approaches. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP*. 2010, roč. 31, č. 7, s. 582–591. ISSN 1536-7312. DOI: 10.1097/DBP.0b013e3181ee384e
- GROSSO, Salvatore et al. Epilepsy and electroencephalographic anomalies in chromosome 2 aberrations. A review. *Epilepsy Research*. 2008, roč. 79, č. 1, s. 63–70. ISSN 0920-1211. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2007.12.011
- GSCHWIND, Markus et al. Tracking Multifocal Epilepsy With Automated Electric Source Imaging in a Patient With Triple-X Syndrome. *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)*. 2022, roč. 18, č. 1, s. 96–98. ISSN 1738-6586. DOI: 10.3988/jcn.2022.18.1.96
- GU, Wenli, Feng ZHANG a James R. LUPSKI. Mechanisms for human genomic rearrangements. *PathoGenetics*. 2008, roč. 1, č. 1, s. 4. ISSN 1755-8417. DOI: 10.1186/1755-8417-1-4
- GUBB, Samuel J. A. et al. Medical and neurobehavioural phenotypes in male and female carriers of Xp22.31 duplications in the UK Biobank. *Human Molecular Genetics*. 2020, roč. 29, č. 17, s. 2872–2881. ISSN 1460-2083. DOI: 10.1093/hmg/ddaa174
- GUILMATRE, Audrey et al. Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biologic pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation. *Archives of General Psychiatry*. 2009, roč. 66, č. 9, s. 947–956. ISSN 1538-3636. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.80
- GUISSART, Claire et al. Dual Molecular Effects of Dominant RORA Mutations Cause Two Variants of Syndromic Intellectual Disability with Either Autism or Cerebellar Ataxia. *The American Journal of Human Genetics*. 2018, roč. 102, č. 5, s. 744–759. ISSN 0002-9297, 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.02.021
- GUNA, Alina, Nancy J. BUTCHER a Anne S. BASSETT. Comparative mapping of the 22q11.2 deletion region and the potential of simple model organisms. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 2015, roč. 7, č. 1, s. 18. ISSN 1866-1947. DOI: 10.1186/s11689-015-9113-x
- GUO, Hui et al. Disruptive mutations in TANC2 define a neurodevelopmental syndrome associated with psychiatric disorders. *Nature Communications*. 2019, roč. 10, č. 1, s. 4679. ISSN 2041-1723. DOI: 10.1038/s41467-019-12435-8
- HAGERMAN, Paul J. a Carl E. STAFSTROM. Origins of epilepsy in fragile X syndrome. *Epilepsy Currents*. 2009, roč. 9, č. 4, s. 108–112. ISSN 1535-7597. DOI: 10.1111/j.1535-7511.2009.01309.x
- HAN, Seungnam et al. Regulation of Dendritic Spines, Spatial Memory, and Embryonic Development by the TANC Family of PSD-95-Interacting Proteins. *The Journal of Neuroscience*. 2010, roč. 30, č. 45, s. 15102–15112. ISSN 0270-6474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3128-10.2010

- HAUSER, W. A., J. F. ANNEGERS a L. T. KURLAND. Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia*. 1993, roč. 34, č. 3, s. 453–468. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1993.tb02586.x
- HEIDARI, Abolfazl et al. Mutations in the histamine N-methyltransferase gene, HNMT, are associated with nonsyndromic autosomal recessive intellectual disability. *Human Molecular Genetics*. 2015, roč. 24, č. 20, s. 5697–5710. ISSN 1460-2083. DOI: 10.1093/hmg/ddv286
- HELBIG, Ingo a Daniel H. LOWENSTEIN. Genetics of the epilepsies: where are we and where are we going? *Current opinion in neurology*. 2013, roč. 26, č. 2, s. 179–185. ISSN 1350-7540. DOI: 10.1097/WCO.0b013e32835ee6ff
- HELBIG, Ingo et al. 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nature Genetics*. 2009, roč. 41, č. 2, s. 160–162. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.292
- HEMPELMANN, Anne et al. Exploration of the Genetic Architecture of Idiopathic Generalized Epilepsies. *Epilepsia*. 2006, roč. 47, č. 10, s. 1682–1690. ISSN 1528-1167. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00677.x>
- HERMANN, Bruce P. et al. Neurobehavioural comorbidities of epilepsy: towards a network-based precision taxonomy. *Nature reviews. Neurology*. 2021, roč. 17, č. 12, s. 731–746. ISSN 1759-4758. DOI: 10.1038/s41582-021-00555-z
- HERON, Sarah E. et al. Familial neonatal seizures with intellectual disability caused by a microduplication of chromosome 2q24.3. *Epilepsia*. 2010, roč. 51, č. 9, s. 1865–1869. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02558.x
- HERON, Sarah E. et al. Missense mutations in the sodium-gated potassium channel gene KCNT1 cause severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature Genetics*. 2012, roč. 44, č. 11, s. 1188–1190. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.2440
- HESS, E. J. Migraines in mice? *Cell*. 1996, roč. 87, č. 7, s. 1149–1151. ISSN 0092-8674. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81809-7
- HINO-FUKUYO, Naomi et al. Dramatic response after functional hemispherectomy in a patient with epileptic encephalopathy carrying a de novo COL4A1 mutation. *Brain & Development*. 2017, roč. 39, č. 4, s. 337–340. ISSN 1872-7131. DOI: 10.1016/j.braindev.2016.11.006
- HIROSE, Shinichi et al. Genetic abnormalities underlying familial epilepsy syndromes. *Brain & Development*. 2002, roč. 24, č. 4, s. 211–222. ISSN 0387-7604. DOI: 10.1016/s0387-7604(02)00056-6
- HOLLIDAY, R. a J. E. PUGH. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science (New York, N.Y.)*. 1975, roč. 187, č. 4173, s. 226–232. ISSN 0036-8075.
- HORI, Kei a Mikio HOSHINO. Neuronal Migration and AUTS2 Syndrome. *Brain Sciences*. 2017, roč. 7, č. 5, s. 54. ISSN 2076-3425. DOI: 10.3390/brainsci7050054
- HORI, Kei et al. Cytoskeletal regulation by AUTS2 in neuronal migration and neurogenesis. *Cell Reports*. 2014, roč. 9, č. 6, s. 2166–2179. ISSN 2211-1247. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.11.045
- HORI, Kei, Kazumi SHIMAOKA a Mikio HOSHINO. AUTS2 Gene: Keys to Understanding the Pathogenesis of Neurodevelopmental Disorders. *Cells*. 2021, roč. 11, č. 1, s. 11. ISSN 2073-4409. DOI: 10.3390/cells11010011
- HSIEH, Jenny a Xinyu ZHAO. Genetics and Epigenetics in Adult Neurogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2016, roč. 8, č. 6. ISSN 1943-0264. DOI: 10.1101/cshperspect.a018911
- HU, Jie et al. CNTN6 copy number variations in 14 patients: a possible candidate gene for neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Journal of*

- Neurodevelopmental Disorders*. 2015, roč. 7, č. 1, s. 26. ISSN 1866-1947.
DOI: 10.1186/s11689-015-9122-9
- HU, Ting et al. Chromosomal Aberrations in Pediatric Patients with Developmental Delay/Intellectual Disability: A Single-Center Clinical Investigation. *BioMed Research International*. 2019, roč. 2019, s. e9352581. ISSN 2314-6133.
DOI: 10.1155/2019/9352581
- CHAABOUNI, M. et al. Molecular cytogenetic analysis of five 2q37 deletions: refining the brachydactyly candidate region. *European Journal of Medical Genetics*. 2006, roč. 49, č. 3, s. 255–263. ISSN 1769-7212. DOI: 10.1016/j.ejmg.2005.07.001
- CHAI, J.-H. et al. Identification of four highly conserved genes between breakpoint hotspots BP1 and BP2 of the Prader-Willi/Angelman syndromes deletion region that have undergone evolutionary transposition mediated by flanking duplicons. *American Journal of Human Genetics*. 2003, roč. 73, č. 4, s. 898–925. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/378816
- CHEN, H. J. et al. A synaptic Ras-GTPase activating protein (p135 SynGAP) inhibited by CaM kinase II. *Neuron*. 1998, roč. 20, č. 5, s. 895–904. ISSN 0896-6273.
DOI: 10.1016/s0896-6273(00)80471-7
- CHEN, Pei-Lung et al. Fine mapping on chromosome 10q22-q23 implicates Neuregulin 3 in schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*. 2009, roč. 84, č. 1, s. 21–34. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.12.005
- CHEN, Tian et al. Genetic and epigenetic mechanisms of epilepsy: a review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2017, roč. 13, s. 1841–1859. ISSN 1176-6328. DOI: 10.2147/NDT.S142032
- CHEN, Ying-Ling et al. Overexpression of HACE1 in gastric cancer inhibits tumor aggressiveness by impeding cell proliferation and migration. *Cancer Medicine*. 2018, roč. 7, č. 6, s. 2472–2484. ISSN 2045-7634. DOI: 10.1002/cam4.1496
- CHENG, Fang et al. A 556 kb deletion in the downstream region of the PAX6 gene causes familial aniridia and other eye anomalies in a Chinese family. *Molecular Vision*. 2011, roč. 17, s. 448–455. ISSN 1090-0535.
- CHING, Michael SL et al. Deletions of NRXN1 (Neurexin-1) Predispose to a Wide Spectrum of Developmental Disorders. *American Journal of Medical Genetics*. 2010, roč. 153B, č. 4, s. 937–947. ISSN 1552-4841. DOI: 10.1002/ajmg.b.31063
- CHIOZA, B. et al. Association between the alpha(1a) calcium channel gene CACNA1A and idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. 2001, roč. 56, č. 9, s. 1245–1246. ISSN 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.56.9.1245
- CHO, Jin Hwa et al. Deubiquitinase OTUD5 is a positive regulator of mTORC1 and mTORC2 signaling pathways. *Cell Death and Differentiation*. 2021, roč. 28, č. 3, s. 900–914. ISSN 1476-5403. DOI: 10.1038/s41418-020-00649-z
- CHRISTENSEN, Jakob et al. Incidence and prevalence of epilepsy in Denmark. *Epilepsy Research*. 2007, roč. 76, č. 1, s. 60–65. ISSN 0920-1211.
DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2007.06.012
- IAFRATE, A. John et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nature Genetics*. 2004, roč. 36, č. 9, s. 949–951. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng1416
- IJIMA, Takatoshi et al. SAM68 regulates neuronal activity-dependent alternative splicing of neurexin-1. *Cell*. 2011, roč. 147, č. 7, s. 1601–1614. ISSN 1097-4172.
DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.028
- IMITOLA, Jaime et al. A novel 2q37 microdeletion containing human neural progenitors genes including STK25 results in severe developmental delay, epilepsy, and microcephaly. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2015, roč. 167A, č. 11, s. 2808–2816. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.37268

- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001, roč. 409, č. 6822, s. 860–921. ISSN 0028-0836, 1476-4687. DOI: 10.1038/35057062
- 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, roč. 9, č. 1, s. 5269. ISSN 2041-1723. DOI: 10.1038/s41467-018-07524-z
- ISHII, Atsushi et al. A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene*. 2013, roč. 531, č. 2, s. 467–471. ISSN 1879-0038. DOI: 10.1016/j.gene.2013.08.096
- ISHKANIAN, Adrian S. et al. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nature Genetics*. 2004, roč. 36, č. 3, s. 299–303. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng1307
- ISMAIL, Fatima Y. a Bruce K. SHAPIRO. What are neurodevelopmental disorders? *Current Opinion in Neurology*. 2019, roč. 32, č. 4, s. 611–616. ISSN 1473-6551. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000710
- JESTE, Shafali Spurling. Neurodevelopmental behavioral and cognitive disorders. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. 2015, roč. 21, č. 3 Behavioral Neurology and Neuropsychiatry, s. 690–714. ISSN 1538-6899. DOI: 10.1212/01.CON.0000466661.89908.3c
- JIANG, Yuwu et al. NIPA2 located in 15q11.2 is mutated in patients with childhood absence epilepsy. *Human Genetics*. 2012, roč. 131, č. 7, s. 1217–1224. ISSN 1432-1203. DOI: 10.1007/s00439-012-1149-3
- JOHANSSON, Viktoria et al. A population-based heritability estimate of bipolar disorder - In a Swedish twin sample. *Psychiatry Research*. 2019, roč. 278, s. 180–187. ISSN 1872-7123. DOI: 10.1016/j.psychres.2019.06.010
- JOHNSTON, D. a T. H. BROWN. The synaptic nature of the paroxysmal depolarizing shift in hippocampal neurons. *Annals of Neurology*. 1984, roč. 16 Suppl, s. S65-71. ISSN 0364-5134. DOI: 10.1002/ana.410160711
- JØNCH, Aia Elise et al. Estimating the effect size of the 15Q11.2 BP1-BP2 deletion and its contribution to neurodevelopmental symptoms: recommendations for practice. *Journal of Medical Genetics*. 2019, roč. 56, č. 10, s. 701–710. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmedgenet-2018-105879
- JOUVENCEAU, A. et al. Human epilepsy associated with dysfunction of the brain P/Q-type calcium channel. *Lancet (London, England)*. 2001, roč. 358, č. 9284, s. 801–807. ISSN 0140-6736. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)05971-2
- KALLIONIEMI, A. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science (New York, N.Y.)*. 1992, roč. 258, č. 5083, s. 818–821. ISSN 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1359641
- KAMINSKY, Erin B. et al. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2011, roč. 13, č. 9, s. 777–784. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1097/GIM.0b013e31822c79f9
- KANAAR, R., J. H. HOEIJMAKERS a D. C. VAN GENT. Molecular mechanisms of DNA double strand break repair. *Trends in Cell Biology*. 1998, roč. 8, č. 12, s. 483–489. ISSN 0962-8924. DOI: 10.1016/s0962-8924(98)01383-x
- KANG, Jessica et al. The Prenatal Diagnosis and Clinical Outcomes of Fetuses With 15q11.2 Copy Number Variants: A Case Series of 36 Patients. *Frontiers in Medicine*. 2021, roč. 8, s. 754521. ISSN 2296-858X. DOI: 10.3389/fmed.2021.754521

- KAO, Amy et al. Increased prevalence of unprovoked seizures in patients with a 22q11.2 deletion. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2004, roč. 129A, č. 1, s. 29–34. ISSN 1552-4825. DOI: 10.1002/ajmg.a.30133
- KARATINOS, J., R. B. ROSSE a S. I. DEUTSCH. The nitric oxide pathway: potential implications for treatment of neuropsychiatric disorders. *Clinical Neuropharmacology*. 1995, roč. 18, č. 6, s. 482–499. ISSN 0362-5664.
- KARIMINEJAD, Roxana et al. High frequency of rare copy number variants affecting functionally related genes in patients with structural brain malformations. *Human Mutation*. 2011, roč. 32, č. 12, s. 1427–1435. ISSN 1098-1004. DOI: 10.1002/humu.21585
- KESSI, Miriam et al. Genetic etiologies of the electrical status epilepticus during slow wave sleep: systematic review. *BMC genetics*. 2018, roč. 19, č. 1, s. 40. ISSN 1471-2156. DOI: 10.1186/s12863-018-0628-5
- KHRAMTSOVA, Ekaterina A. et al. Sex differences in the genetic architecture of obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2019, roč. 180, č. 6, s. 351–364. ISSN 1552-485X. DOI: 10.1002/ajmg.b.32687
- KIM, Eun Hee et al. Epilepsy and Other Neuropsychiatric Manifestations in Children and Adolescents with 22q11.2 Deletion Syndrome. *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)*. 2016, roč. 12, č. 1, s. 85–92. ISSN 1738-6586. DOI: 10.3988/jcn.2016.12.1.85
- KIM, Hye Sung et al. Altered DNA copy number in patients with different seizure disorder type: by array-CGH. *Brain & Development*. 2007, roč. 29, č. 10, s. 639–643. ISSN 0387-7604. DOI: 10.1016/j.braindev.2007.04.006
- KIM, J. H. et al. SynGAP: a synaptic RasGAP that associates with the PSD-95/SAP90 protein family. *Neuron*. 1998, roč. 20, č. 4, s. 683–691. ISSN 0896-6273. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)81008-9
- KIM, Jung-Hyun et al. De Novo Mutations in SON Disrupt RNA Splicing of Genes Essential for Brain Development and Metabolism, Causing an Intellectual-Disability Syndrome. *American Journal of Human Genetics*. 2016, roč. 99, č. 3, s. 711–719. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.06.029
- KJELDSSEN, M. J. et al. Genetic and environmental factors in epilepsy: a population-based study of 11900 Danish twin pairs. *Epilepsy Research*. 2001, roč. 44, č. 2–3, s. 167–178. ISSN 0920-1211. DOI: 10.1016/s0920-1211(01)00196-6
- KLITTEN, Laura L. et al. A balanced translocation disrupts SYNGAP1 in a patient with intellectual disability, speech impairment, and epilepsy with myoclonic absences (EMA). *Epilepsia*. 2011, roč. 52, č. 12, s. e190-193. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.03304.x
- KOBAYASHI, Kenta et al. p140Sra-1 (Specifically Rac1-associated Protein) Is a Novel Specific Target for Rac1 Small GTPase *. *Journal of Biological Chemistry*. 1998, roč. 273, č. 1, s. 291–295. ISSN 0021-9258, 1083-351X. DOI: 10.1074/jbc.273.1.291
- KOBOW, Katja a Ingmar BLÜMCKE. The emerging role of DNA methylation in epileptogenesis. *Epilepsia*. 2012, roč. 53 Suppl 9, s. 11–20. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.12031
- KOBOW, Katja et al. Increased reelin promoter methylation is associated with granule cell dispersion in human temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 2009, roč. 68, č. 4, s. 356–364. ISSN 0022-3069. DOI: 10.1097/NEN.0b013e31819ba737

- KOGAN, Jillene M., Erin MILLER a Stephanie M. WARE. High resolution SNP based microarray mapping of mosaic supernumerary marker chromosomes 13 and 17: delineating novel loci for apraxia. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2009, roč. 149A, č. 5, s. 887–893. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.32750
- KORREL, Hannah et al. Research Review: Language problems in children with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder - a systematic meta-analytic review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*. 2017, roč. 58, č. 6, s. 640–654. ISSN 1469-7610. DOI: 10.1111/jcpp.12688
- KOTSOPOULOS, Irene A. W. et al. Systematic review and meta-analysis of incidence studies of epilepsy and unprovoked seizures. *Epilepsia*. 2002, roč. 43, č. 11, s. 1402–1409. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1046/j.1528-1157.2002.t01-1-26901.x
- DE KOVEL, Carolien G. F. et al. Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies. *Brain: A Journal of Neurology*. 2010, roč. 133, č. Pt 1, s. 23–32. ISSN 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awp262
- KŘÍŽ, L, M BÍČÍKOVÁ a R HAMPL. Roles of steroid sulfatase in brain and other tissues. *Physiological Research*. 2008, s. 657–668. ISSN 1802-9973, 0862-8408. DOI: 10.33549/physiolres.931207
- KUSHARY, Sulagna Tina et al. ZTTK syndrome: Clinical and molecular findings of 15 cases and a review of the literature. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2021, roč. 185, č. 12, s. 3740–3753. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.62445
- LAL, Dennis et al. Gene family information facilitates variant interpretation and identification of disease-associated genes in neurodevelopmental disorders. *Genome Medicine*. 2020, roč. 12, č. 1, s. 28. ISSN 1756-994X. DOI: 10.1186/s13073-020-00725-6
- LAL, Dennis et al. Extending the phenotypic spectrum of RBFOX1 deletions: Sporadic focal epilepsy. *Epilepsia*. 2015, roč. 56, č. 9, s. e129-133. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.13076
- LAL, Dennis et al. RBFOX1 and RBFOX3 mutations in rolandic epilepsy. *PloS One*. 2013, roč. 8, č. 9, s. e73323. ISSN 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0073323
- LAL, Dennis et al. Rare exonic deletions of the RBFOX1 gene increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia*. 2013, roč. 54, č. 2, s. 265–271. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.12084
- LALIOTI, Maria D. et al. Dodecamer repeat expansion in cystatin B gene in progressive myoclonus epilepsy. *Nature*. 1997, roč. 386, č. 6627, s. 847–851. ISSN 0028-0836, 1476-4687. DOI: 10.1038/386847a0
- LARSSON, H. et al. The heritability of clinically diagnosed attention deficit hyperactivity disorder across the lifespan. *Psychological Medicine*. 2014, roč. 44, č. 10, s. 2223–2229. ISSN 1469-8978. DOI: 10.1017/S0033291713002493
- LAVADOS, J. et al. A descriptive study of epilepsy in the district of El Salvador, Chile, 1984-1988. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1992, roč. 85, č. 4, s. 249–256. ISSN 0001-6314. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1992.tb04040.x
- LAZARUS, Jacob E. et al. Dynactin subunit p150(Glued) is a neuron-specific anti-catastrophe factor. *PLoS biology*. 2013, roč. 11, č. 7, s. e1001611. ISSN 1545-7885. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001611
- LE, Trang N. et al. Genotype and phenotype correlation in 103 individuals with 2q37 deletion syndrome reveals incomplete penetrance and supports HDAC4 as the primary genetic contributor. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2019, roč. 179, č. 5, s. 782–791. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.61089
- LEBLOND, Claire S. et al. Operative list of genes associated with autism and neurodevelopmental disorders based on database review. *Molecular and Cellular*

- Neurosciences*. 2021, roč. 113, s. 103623. ISSN 1095-9327.
DOI: 10.1016/j.mcn.2021.103623
- LEE, Charles a Stephen W. SCHERER. The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2010, roč. 12, s. e8. ISSN 1462-3994. DOI: 10.1017/S1462399410001390
- LEE, Jennifer A., Claudia M. B. CARVALHO a James R. LUPSKI. A DNA replication mechanism for generating nonrecurrent rearrangements associated with genomic disorders. *Cell*. 2007, roč. 131, č. 7, s. 1235–1247. ISSN 0092-8674.
DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.037
- LEE, Jennifer A. a James R. LUPSKI. Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders. *Neuron*. 2006, roč. 52, č. 1, s. 103–121. ISSN 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.09.027
- LEE, Jin Sook et al. Chromosomal Microarray With Clinical Diagnostic Utility in Children With Developmental Delay or Intellectual Disability. *Annals of Laboratory Medicine*. 2018, roč. 38, č. 5, s. 473–480. DOI: 10.3343/alm.2018.38.5.473
- LEE, Yohan et al. Microduplications disrupting the MYT1L gene (2p25.3) are associated with schizophrenia. *Psychiatric Genetics*. 2012, roč. 22, č. 4, s. 206–209. ISSN 1473-5873. DOI: 10.1097/YPG.0b013e328353ae3d
- LEHMANN-HORN, F. a K. JURKAT-ROTT. Voltage-gated ion channels and hereditary disease. *Physiological Reviews*. 1999, roč. 79, č. 4, s. 1317–1372. ISSN 0031-9333.
DOI: 10.1152/physrev.1999.79.4.1317
- LERCHE, H., K. JURKAT-ROTT a F. LEHMANN-HORN. Ion channels and epilepsy. *American Journal of Medical Genetics*. 2001, roč. 106, č. 2, s. 146–159. ISSN 0148-7299. DOI: 10.1002/ajmg.1582
- LESCA, G. a C. DEPIENNE. Epilepsy genetics: the ongoing revolution. *Revue Neurologique*. 2015, roč. 171, č. 6–7, s. 539–557. ISSN 0035-3787.
DOI: 10.1016/j.neurol.2015.01.569
- LEWIS, Emily Ma a Kristen L. KROLL. Development and disease in a dish: the epigenetics of neurodevelopmental disorders. *Epigenomics*. 2018, roč. 10, č. 2, s. 219–231. ISSN 1750-192X. DOI: 10.2217/epi-2017-0113
- LI, E., C. BEARD a R. JAENISCH. Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature*. 1993, roč. 366, č. 6453, s. 362–365. ISSN 0028-0836.
DOI: 10.1038/366362a0
- LI, Feng et al. Interstitial microduplication of Xp22.31: Causative of intellectual disability or benign copy number variant? *European Journal of Medical Genetics*. 2010, roč. 53, č. 2, s. 93–99. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2010.01.004
- LI, Jia et al. A Chinese benign adult familial myoclonic epilepsy pedigree suggesting linkage to chromosome 5p15.31-p15.1. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2014, roč. 69, č. 3, s. 627–631. ISSN 1559-0283. DOI: 10.1007/s12013-014-9843-5
- LIEBER, Michael R. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008, roč. 283, č. 1, s. 1–5. ISSN 0021-9258.
DOI: 10.1074/jbc.R700039200
- LIU, Caixia et al. Genetic analysis of a Chinese family provides further evidence for linkage of familial cortical myoclonic tremor with epilepsy to 5p15.31-p15. *Neurology India*. 2015, roč. 63, č. 2, s. 215. ISSN 0028-3886. DOI: 10.4103/0028-3886.156283
- LIU, Pengfei et al. Copy number gain at Xp22.31 includes complex duplication rearrangements and recurrent triplications. *Human Molecular Genetics*. 2011, roč. 20, č. 10, s. 1975–1988. ISSN 1460-2083. DOI: 10.1093/hmg/ddr078

- LOKE, Yuk Jing, Anthony John HANNAN a Jeffrey Mark CRAIG. The Role of Epigenetic Change in Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Neurology*. 2015, roč. 6, s. 107. ISSN 1664-2295. DOI: 10.3389/fneur.2015.00107
- VAN LOO, K. M. J. a G. J. M. MARTENS. Genetic and environmental factors in complex neurodevelopmental disorders. *Current Genomics*. 2007, roč. 8, č. 7, s. 429–444. ISSN 1389-2029. DOI: 10.2174/138920207783591717
- LOVIGLIO, Maria Nicla et al. The Immune Signaling Adaptor LAT Contributes to the Neuroanatomical Phenotype of 16p11.2 BP2-BP3 CNVs. *American Journal of Human Genetics*. 2017, roč. 101, č. 4, s. 564–577. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2017.08.016
- LUCK, Robert et al. VEGF/VEGFR2 signaling regulates hippocampal axon branching during development. *eLife*. 2019, roč. 8, s. e49818. ISSN 2050-084X. DOI: 10.7554/eLife.49818
- LUPSKI, J. R. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends in genetics: TIG*. 1998, roč. 14, č. 10, s. 417–422. ISSN 0168-9525. DOI: 10.1016/s0168-9525(98)01555-8
- LUSK, Laina et al. Maternal 15q Duplication Syndrome. In: ADAM, Margaret P. et al., eds. *GeneReviews®* [online]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993 [cit. 26.10.2021]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK367946/>
- MANTRIPRAGADA, Kiran K. et al. Genomic microarrays in the spotlight. *Trends in genetics: TIG*. 2004, roč. 20, č. 2, s. 87–94. ISSN 0168-9525. DOI: 10.1016/j.tig.2003.12.008
- MATSUKI, Tohru, Jianhua CHEN a Brian W. HOWELL. Acute inactivation of the serine-threonine kinase Stk25 disrupts neuronal migration. *Neural Development*. 2013, roč. 8, s. 21. ISSN 1749-8104. DOI: 10.1186/1749-8104-8-21
- MATSUKI, Tohru et al. Reelin and stk25 have opposing roles in neuronal polarization and dendritic Golgi deployment. *Cell*. 2010, roč. 143, č. 5, s. 826–836. ISSN 1097-4172. DOI: 10.1016/j.cell.2010.10.029
- MATSUKI, Tohru et al. Identification of Stk25 as a genetic modifier of Tau phosphorylation in Dab1-mutant mice. *PLoS One*. 2012, roč. 7, č. 2, s. e31152. ISSN 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0031152
- MAURITZ, Matthias et al. Acute symptomatic seizures: an educational, evidence-based review. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*. 2022, roč. 24, č. 1, s. 26–49. ISSN 1950-6945. DOI: 10.1684/epd.2021.1376
- MAYA, Idit et al. High-frequency low-penetrance copy-number variant classification: should we revise the existing guidelines? *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2020, roč. 22, č. 7, s. 1276–1277. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1038/s41436-020-0795-4
- MCDONALD-MCGINN, Donna M. et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nature Reviews. Disease Primers*. 2015, roč. 1, s. 15071. ISSN 2056-676X. DOI: 10.1038/nrdp.2015.71
- MEFFORD, Heather C. CNVs in Epilepsy. *Current Genetic Medicine Reports*. 2014, roč. 2, s. 162–167. ISSN 2167-4876. DOI: 10.1007/s40142-014-0046-6
- MEFFORD, Heather C. et al. Genome-Wide Copy Number Variation in Epilepsy: Novel Susceptibility Loci in Idiopathic Generalized and Focal Epilepsies. *PLoS Genetics*. 2010, roč. 6, č. 5. ISSN 1553-7390. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000962
- MEFFORD, Heather C. et al. Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *The New England Journal of Medicine*. 2008, roč. 359, č. 16, s. 1685–1699. ISSN 1533-4406. DOI: 10.1056/NEJMoa0805384

- MELTZER, P. S., X. Y. GUAN a J. M. TRENT. Telomere capture stabilizes chromosome breakage. *Nature Genetics*. 1993, roč. 4, č. 3, s. 252–255. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng0793-252
- MERIKANGAS, Alison K., Aiden P. CORVIN a Louise GALLAGHER. Copy-number variants in neurodevelopmental disorders: promises and challenges. *Trends in genetics: TIG*. 2009, roč. 25, č. 12, s. 536–544. ISSN 0168-9525. DOI: 10.1016/j.tig.2009.10.006
- MIKHAIL, Fady M. Copy number variations and human genetic disease. *Current Opinion in Pediatrics*. 2014, roč. 26, č. 6, s. 646–652. ISSN 1040-8703. DOI: 10.1097/MOP.0000000000000142
- MILLER, David T. et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *American Journal of Human Genetics*. 2010, roč. 86, č. 5, s. 749–764. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006
- MILLER, L. L. et al. Univariate genetic analyses of epilepsy and seizures in a population-based twin study: the Virginia Twin Registry. *Genetic Epidemiology*. 1998, roč. 15, č. 1, s. 33–49. ISSN 0741-0395. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2272(1998)15:1<33::AID-GEPI3>3.0.CO;2-5
- MILLER-DELANEY, Suzanne F. C. et al. Differential DNA methylation patterns define status epilepticus and epileptic tolerance. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. 2012, roč. 32, č. 5, s. 1577–1588. ISSN 1529-2401. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5180-11.2012
- MISSLER, M. a T. C. SÜDHOF. Neurexins: three genes and 1001 products. *Trends in genetics: TIG*. 1998, roč. 14, č. 1, s. 20–26. ISSN 0168-9525. DOI: 10.1016/S0168-9525(97)01324-3
- MOORTGAT, Stéphanie et al. HUWE1 variants cause dominant X-linked intellectual disability: a clinical study of 21 patients. *European journal of human genetics: EJHG*. 2018, roč. 26, č. 1, s. 64–74. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/s41431-017-0038-6
- MORRIS, Colleen A. et al. 7q11.23 Duplication syndrome: Physical characteristics and natural history. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2015, roč. 167A, č. 12, s. 2916–2935. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.37340
- MOULARD, B. et al. Ion channel variation causes epilepsies. *Brain Research. Brain Research Reviews*. 2001, roč. 36, č. 2–3, s. 275–284. DOI: 10.1016/s0165-0173(01)00104-7
- MUDIGOUDAR, Basanagoud et al. Epilepsy in 22q11.2 Deletion Syndrome: A Case Series and Literature Review. *Pediatric Neurology*. 2017, roč. 76, s. 86–90. ISSN 1873-5150. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2017.08.011
- MULLEN, Saul A. et al. Copy number variants are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. *Neurology*. 2013, roč. 81, č. 17, s. 1507–1514. ISSN 1526-632X. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182a95829
- MULLEY, John C. et al. Channelopathies as a genetic cause of epilepsy. *Current Opinion in Neurology*. 2003, roč. 16, č. 2, s. 171–176. ISSN 1350-7540. DOI: 10.1097/01.wco.0000063767.15877.c7
- MUTCH, C. A. et al. Disorders of Microtubule Function in Neurons: Imaging Correlates. *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2016, roč. 37, č. 3, s. 528–535. ISSN 1936-959X. DOI: 10.3174/ajnr.A4552
- MYERS, Candace T. a Heather C. MEFFORD. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Medicine*. 2015, roč. 7, č. 1. ISSN 1756-994X. DOI: 10.1186/s13073-015-0214-7

- MYERS, Kenneth A., Elisabeth SIMARD-TREMBLAY a Christine SAINT-MARTIN. X-Linked Familial Focal Epilepsy Associated With Xp22.31 Deletion. *Pediatric Neurology*. 2020, roč. 108, s. 113–116. ISSN 1873-5150. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2020.02.008
- NAGAMANI, Sandesh C. S. et al. Detection of copy-number variation in AUTS2 gene by targeted exonic array CGH in patients with developmental delay and autistic spectrum disorders. *European journal of human genetics: EJHG*. 2013, roč. 21, č. 3, s. 343–346. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2012.157
- NAGY, Vanja et al. HACE1 deficiency leads to structural and functional neurodevelopmental defects. *Neurology. Genetics*. 2019, roč. 5, č. 3, s. e330. ISSN 2376-7839. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000330
- NASEER, Muhammad I. et al. Copy number variations in Saudi family with intellectual disability and epilepsy. *BMC genomics*. 2016, roč. 17, č. Suppl 9, s. 757. ISSN 1471-2164. DOI: 10.1186/s12864-016-3091-6
- NEAL, Jason et al. Deletion of chromosome 1p36 is associated with periventricular nodular heterotopia. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2006, roč. 140, č. 15, s. 1692–1695. ISSN 1552-4825. DOI: 10.1002/ajmg.a.31334
- NELLIST, Mark et al. Missense mutations to the TSC1 gene cause tuberous sclerosis complex. *European journal of human genetics: EJHG*. 2009, roč. 17, č. 3, s. 319–328. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2008.170
- NEUBAUER, B. A. et al. Centrotemporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14. *Neurology*. 1998, roč. 51, č. 6, s. 1608–1612. ISSN 0028-3878. DOI: 10.1212/wnl.51.6.1608
- NEWMAN, Scott et al. Next-Generation Sequencing of Duplication CNVs Reveals that Most Are Tandem and Some Create Fusion Genes at Breakpoints. *American Journal of Human Genetics*. 2015, roč. 96, č. 2, s. 208–220. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.12.017
- NISWENDER, Colleen M. a P. Jeffrey CONN. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2010, roč. 50, s. 295–322. ISSN 1545-4304. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533
- NOBILE, Carlo et al. Analysis of 22 deletion breakpoints in dystrophin intron 49. *Human Genetics*. 2002, roč. 110, č. 5, s. 418–421. ISSN 0340-6717. DOI: 10.1007/s00439-002-0721-7
- NONODA, Yutaka et al. Progressive diffuse brain atrophy in West syndrome with marked hypomyelination due to SPTAN1 gene mutation. *Brain & Development*. 2013, roč. 35, č. 3, s. 280–283. ISSN 1872-7131. DOI: 10.1016/j.braindev.2012.05.002
- NOOR, A. et al. Disruption of *YWHAE* gene at 17p13.3 causes learning disabilities and brain abnormalities: NOOR ET AL. *Clinical Genetics*. 2018, roč. 93, č. 2, s. 365–367. ISSN 00099163. DOI: 10.1111/cge.13056
- NUCARO, A. et al. Chromosome 8p23.2-pter: a critical region for mental retardation, autism and epilepsy? *Clinical Genetics*. 2011, roč. 79, č. 4, s. 394–395; author reply 396. ISSN 1399-0004. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2010.01548.x
- OHYAMA, A. et al. A novel missense mutation of the STS gene in two siblings with X-linked ichthyosis, complicated by short stature, bone density reduction, epilepsy, and cryptorchidism. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2019, roč. 44, č. 1, s. 78–79. ISSN 1365-2230. DOI: 10.1111/ced.13741
- OKUMURA, Akihisa et al. Refractory neonatal epilepsy with a de novo duplication of chromosome 2q24.2q24.3. *Epilepsia*. 2011, roč. 52, č. 7, s. e66-69. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.03139.x

- OLAFSSON, E. a W. A. HAUSER. Prevalence of epilepsy in rural Iceland: a population-based study. *Epilepsia*. 1999, roč. 40, č. 11, s. 1529–1534. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb02036.x
- OLSON, Heather et al. Copy number variation plays an important role in clinical epilepsy. *Annals of Neurology*. 2014, roč. 75, č. 6, s. 943–958. ISSN 1531-8249. DOI: 10.1002/ana.24178
- ORIVOLI, Sonia et al. Xp11.22 Microduplications Including HUWE1: Case Report and Literature Review. *Neuropediatrics*. 2016, roč. 47, č. 1, s. 51–56. ISSN 1439-1899. DOI: 10.1055/s-0035-1566233
- ØSTERGAARD, John R. et al. Further delineation of 17p13.3 microdeletion involving CRK. The effect of growth hormone treatment. *European Journal of Medical Genetics*. 2012, roč. 55, č. 1, s. 22–26. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2011.09.004
- PACK, Alison M. Epilepsy Overview and Revised Classification of Seizures and Epilepsies. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. 2019, roč. 25, č. 2, s. 306–321. ISSN 1538-6899. DOI: 10.1212/CON.0000000000000707
- PARENTI, Ilaria et al. Neurodevelopmental Disorders: From Genetics to Functional Pathways. *Trends in Neurosciences*. 2020, roč. 43, č. 8, s. 608–621. ISSN 0166-2236. DOI: 10.1016/j.tins.2020.05.004
- PARK, Peter J. Experimental design and data analysis for array comparative genomic hybridization. *Cancer Investigation*. 2008, roč. 26, č. 9, s. 923–928. ISSN 1532-4192. DOI: 10.1080/07357900801993432
- PARRINI, Elena et al. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Human Mutation*. 2017, roč. 38, č. 2, s. 216–225. ISSN 1098-1004. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.23149>
- PASQUIER, Basile et al. Surgical pathology of drug-resistant partial epilepsy. A 10-year-experience with a series of 327 consecutive resections. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*. 2002, roč. 4, č. 2, s. 99–119. ISSN 1294-9361.
- PATEL, Chirag et al. Translocation breakpoint at 7q31 associated with tics: further evidence for IMMP2L as a candidate gene for Tourette syndrome. *European journal of human genetics: EJHG*. 2011, roč. 19, č. 6, s. 634–639. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2010.238
- PENG, Jing et al. Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2018, roč. 24, č. 12, s. 1196–1206. ISSN 1755-5949. DOI: 10.1111/cns.12860
- PENRY, J. K. a R. J. PORTER. Epilepsy: mechanisms and therapy. *The Medical Clinics of North America*. 1979, roč. 63, č. 4, s. 801–812. ISSN 0025-7125. DOI: 10.1016/s0025-7125(16)31675-3
- PERUCCA, Piero, Melanie BAHLO a Samuel F. BERKOVIC. The Genetics of Epilepsy. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2020, roč. 21, č. 1, s. 205–230. ISSN 1527-8204. DOI: 10.1146/annurev-genom-120219-074937
- PESOLD, C. et al. Reelin is preferentially expressed in neurons synthesizing gamma-aminobutyric acid in cortex and hippocampus of adult rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998, roč. 95, č. 6, s. 3221–3226. ISSN 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.95.6.3221
- PEYCHEVA, Valentina et al. Chromosomal microarray analysis of Bulgarian patients with epilepsy and intellectual disability. *Gene*. 2018, roč. 667, s. 45–55. ISSN 1879-0038. DOI: 10.1016/j.gene.2018.05.015

- PFEIFFER, P et al. Mechanisms of overlap formation in nonhomologous DNA end joining. *Molecular and Cellular Biology*. 1994, roč. 14, č. 2, s. 888–895. ISSN 0270-7306, 1098-5549. DOI: 10.1128/MCB.14.2.888
- PICCIONE, Maria et al. The first case of myoclonic epilepsy in a child with a de novo 22q11.2 microduplication. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2011, roč. 155A, č. 12, s. 3054–3059. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.34275
- PINKEL, D. et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nature Genetics*. 1998, roč. 20, č. 2, s. 207–211. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/2524
- PINTO, Dalila et al. Comprehensive assessment of array-based platforms and calling algorithms for detection of copy number variants. *Nature Biotechnology*. 2011, roč. 29, č. 6, s. 512–520. ISSN 1546-1696. DOI: 10.1038/nbt.1852
- PODURI, Annapurna et al. Somatic mutation, genomic variation, and neurological disease. *Science (New York, N.Y.)*. 2013, roč. 341, č. 6141, s. 1237758. ISSN 1095-9203. DOI: 10.1126/science.1237758
- POIRIER, Karine et al. Mutations in TUBG1, DYNC1H1, KIF5C and KIF2A cause malformations of cortical development and microcephaly. *Nature Genetics*. 2013, roč. 45, č. 6, s. 639–647. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.2613
- POIRIER, Karine et al. Mutations in the neuronal β -tubulin subunit TUBB3 result in malformation of cortical development and neuronal migration defects. *Human Molecular Genetics*. 2010, roč. 19, č. 22, s. 4462–4473. ISSN 1460-2083. DOI: 10.1093/hmg/ddq377
- POLLACK, J. R. et al. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nature Genetics*. 1999, roč. 23, č. 1, s. 41–46. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/12640
- POSAR, Annio a Paola VISCONTI. Neuro-Behavioral Phenotype in 16p11.2 Duplication: A Case Series. *Children (Basel, Switzerland)*. 2020, roč. 7, č. 10, s. E190. ISSN 2227-9067. DOI: 10.3390/children7100190
- PTÁČEK, L. J. Ion channel diseases: episodic disorders of the nervous system. *Seminars in Neurology*. 1999, roč. 19, č. 4, s. 363–369. ISSN 0271-8235.
- QUATTRINI, A. et al. Ichthyosis accompanied by neurological symptoms with special reference to epilepsy. *Italian Journal of Neurological Sciences*. 1986, roč. 7, č. 2, s. 233–242. ISSN 0392-0461. DOI: 10.1007/BF02230886
- RAINIER, Shirley et al. NIPA1 gene mutations cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia (SPG6). *American Journal of Human Genetics*. 2003, roč. 73, č. 4, s. 967–971. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/378817
- RAYBAUD, Charles a Elysa WIDJAJA. Development and dysgenesis of the cerebral cortex: malformations of cortical development. *Neuroimaging Clinics of North America*. 2011, roč. 21, č. 3, s. 483–543, vii. ISSN 1557-9867. DOI: 10.1016/j.nic.2011.05.014
- RAYMOND, Gerald et al. An interstitial duplication at 2q24.3 involving the SCN1A, SCN2A, SCN3A genes associated with infantile epilepsy. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2011, roč. 155A, č. 4, s. 920–923. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.33929
- REDON, Richard et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006, roč. 444, č. 7118, s. 444–454. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/nature05329
- REID, Susan M. et al. Intellectual disability in cerebral palsy: a population-based retrospective study. *Developmental Medicine and Child Neurology*. 2018, roč. 60, č. 7, s. 687–694. ISSN 1469-8749. DOI: 10.1111/dmcn.13773

- REIN, Benjamin a Zhen YAN. 16p11.2 Copy Number Variations and Neurodevelopmental Disorders. *Trends in Neurosciences*. 2020, roč. 43, č. 11, s. 886–901. ISSN 01662236. DOI: 10.1016/j.tins.2020.09.001
- REINTHALER, Eva M. et al. 16p11.2 600 kb Duplications confer risk for typical and atypical Rolandic epilepsy. *Human Molecular Genetics*. 2014, roč. 23, č. 22, s. 6069–6080. ISSN 1460-2083. DOI: 10.1093/hmg/ddu306
- REPNIKOVA, Elena A. et al. CNTN6 copy number variations: Uncertain clinical significance in individuals with neurodevelopmental disorders. *European Journal of Medical Genetics*. 2020, roč. 63, č. 1, s. 103636. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2019.02.008
- RIGGS, Erin Rooney et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2020, roč. 22, č. 2, s. 245–257. ISSN 1530-0366. DOI: 10.1038/s41436-019-0686-8
- RIM, John Hoon et al. Efficient strategy for the molecular diagnosis of intractable early-onset epilepsy using targeted gene sequencing. *BMC Medical Genomics*. 2018, roč. 11, s. 6. ISSN 1755-8794. DOI: 10.1186/s12920-018-0320-7
- ROBERTS, Amy E. et al. Germline gain-of-function mutations in SOS1 cause Noonan syndrome. *Nature Genetics*. 2007, roč. 39, č. 1, s. 70–74. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng1926
- RODRIGO-NICOLÁS, B. et al. Evidence of the high prevalence of neurological disorders in nonsyndromic X-linked recessive ichthyosis: a retrospective case series. *British Journal of Dermatology*. 2018, roč. 179, č. 4, s. 933–939. ISSN 1365-2133. DOI: 10.1111/bjd.16826
- ROMANIELLO, Romina et al. Tubulin genes and malformations of cortical development. *European Journal of Medical Genetics*. 2018, roč. 61, č. 12, s. 744–754. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2018.07.012
- ROSENFELD, Jill A. et al. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genetics in Medicine*. 2013, roč. 15, č. 6, s. 478–481. ISSN 1098-3600. DOI: 10.1038/gim.2012.164
- ROUBERTIE, Agathe et al. Partial Epilepsy and 47,XXX Karyotype: Report of Four Cases. *Pediatric Neurology*. 2006, roč. 35, č. 1, s. 69–74. ISSN 08878994. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2006.01.003
- RUSS, Shirley A., Kandyce LARSON a Neal HALFON. A national profile of childhood epilepsy and seizure disorder. *Pediatrics*. 2012, roč. 129, č. 2, s. 256–264. ISSN 1098-4275. DOI: 10.1542/peds.2010-1371
- SABARATNAM, M., P. G. VROEGOP a S. K. GANGADHARAN. Epilepsy and EEG findings in 18 males with fragile X syndrome. *Seizure*. 2001, roč. 10, č. 1, s. 60–63. ISSN 1059-1311. DOI: 10.1053/seiz.2000.0492
- SAIDA, Ken et al. OTUD5 Variants Associated With X-Linked Intellectual Disability and Congenital Malformation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021, roč. 9, s. 631428. ISSN 2296-634X. DOI: 10.3389/fcell.2021.631428
- SAITSU, Hirotomo et al. Dominant-negative mutations in alpha-II spectrin cause West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *American Journal of Human Genetics*. 2010, roč. 86, č. 6, s. 881–891. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.04.013
- SAKASHITA, K. et al. Dynamic DNA methylation change in the CpG island region of p15 during human myeloid development. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001, roč. 108, č. 8, s. 1195–1204. ISSN 0021-9738. DOI: 10.1172/JCI13030

- SALINAS, R. D., D. R. CONNOLLY a H. SONG. Invited Review: Epigenetics in neurodevelopment. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2020, roč. 46, č. 1, s. 6–27. ISSN 1365-2990. DOI: 10.1111/nan.12608
- SALPEKAR, Jay A. a Marco MULA. Common psychiatric comorbidities in epilepsy: How big of a problem is it? *Epilepsy & Behavior: E&B*. 2019, roč. 98, č. Pt B, s. 293–297. ISSN 1525-5069. DOI: 10.1016/j.yebeh.2018.07.023
- SALZMANN, Annick et al. Carboxypeptidase A6 gene (CPA6) mutations in a recessive familial form of febrile seizures and temporal lobe epilepsy and in sporadic temporal lobe epilepsy. *Human Mutation*. 2012, roč. 33, č. 1, s. 124–135. ISSN 1098-1004. DOI: 10.1002/humu.21613
- SASAKI, M., J. LANGE a S. KEENEY. Genome destabilization by homologous recombination in the germ line. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2010. DOI: 10.1038/nrm2849
- SEBAT, Jonathan et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science (New York, N.Y.)*. 2007, roč. 316, č. 5823, s. 445–449. ISSN 1095-9203. DOI: 10.1126/science.1138659
- SEBAT, Jonathan et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science (New York, N.Y.)*. 2004, roč. 305, č. 5683, s. 525–528. ISSN 1095-9203. DOI: 10.1126/science.1098918
- SEIFFERT, Simone et al. Modulating effects of FGF12 variants on NaV1.2 and NaV1.6 being associated with developmental and epileptic encephalopathy and Autism spectrum disorder: A case series. *EBioMedicine*. 2022, roč. 83, s. 104234. ISSN 2352-3964. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104234
- SEVERINO, Mariasavina et al. Definitions and classification of malformations of cortical development: practical guidelines. *Brain*. 2020, roč. 143, č. 10, s. 2874–2894. ISSN 0006-8950. DOI: 10.1093/brain/awaa174
- SHARP, Andrew J. et al. A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nature Genetics*. 2008, roč. 40, č. 3, s. 322–328. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.93
- SHAW, Christine J. a James R. LUPSKI. Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. *Human Molecular Genetics*. 2004, roč. 13 Spec No 1, s. R57-64. ISSN 0964-6906. DOI: 10.1093/hmg/ddh073
- SHAW, Christine J. a James R. LUPSKI. Non-recurrent 17p11.2 deletions are generated by homologous and non-homologous mechanisms. *Human Genetics*. 2005, roč. 116, č. 1–2, s. 1–7. ISSN 0340-6717. DOI: 10.1007/s00439-004-1204-9
- SHAWKY, Rabah M. Reduced penetrance in human inherited disease. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2014, roč. 15, č. 2, s. 103–111. ISSN 1110-8630. DOI: 10.1016/j.ejmhg.2014.01.003
- SHAW-SMITH, C. et al. Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. *Journal of Medical Genetics*. 2004, roč. 41, č. 4, s. 241–248. ISSN 1468-6244. DOI: 10.1136/jmg.2003.017731
- SHEEN, V. L. et al. Periventricular heterotopia associated with chromosome 5p anomalies. *Neurology*. 2003, roč. 60, č. 6, s. 1033–1036. ISSN 1526-632X. DOI: 10.1212/01.wnl.0000052689.03214.61
- SHI, Rui-Ming et al. Phenytoin-responsive epileptic encephalopathy with a tandem duplication involving FGF12. *Neurology Genetics*. 2017, roč. 3, č. 1, s. e133. ISSN 2376-7839. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000133

- SHINAWI, Marwan et al. Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioural problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size. *Journal of Medical Genetics*. 2010, roč. 47, č. 5, s. 332–341. ISSN 0022-2593, 1468-6244. DOI: 10.1136/jmg.2009.073015
- SCHAAF, Christian P. Nicotinic acetylcholine receptors in human genetic disease. *Genetics in Medicine*. 2014, roč. 16, č. 9, s. 649–656. ISSN 1098-3600, 1530-0366. DOI: 10.1038/gim.2014.9
- SCHAAF, Christian P et al. Phenotypic spectrum and genotype–phenotype correlations of NRXN1 exon deletions. *European Journal of Human Genetics*. 2012, roč. 20, č. 12, s. 1240–1247. ISSN 1018-4813. DOI: 10.1038/ejhg.2012.95
- SCHAAF, Christian P. et al. Expanding the clinical spectrum of the 16p11.2 chromosomal rearrangements: three patients with syringomyelia. *European journal of human genetics: EJHG*. 2011, roč. 19, č. 2, s. 152–156. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2010.168
- SCHARFMAN, Helen E. The Neurobiology of Epilepsy. *Current neurology and neuroscience reports*. 2007, roč. 7, č. 4, s. 348–354. ISSN 1528-4042.
- SCHEFFER, Ingrid E. et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017, roč. 58, č. 4, s. 512–521. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.13709
- SCHWAENEN, Carsten et al. Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: development of a clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004, roč. 101, č. 4, s. 1039–1044. ISSN 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0304717101
- SIEKIERSKA, Aleksandra et al. Gain-of-function FHF1 mutation causes early-onset epileptic encephalopathy with cerebellar atrophy. *Neurology*. 2016, roč. 86, č. 23, s. 2162–2170. ISSN 1526-632X. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002752
- SILLANPÄÄ, M. et al. Genetic factors in epileptic seizures: evidence from a large twin population. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1991, roč. 84, č. 6, s. 523–526. ISSN 0001-6314. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1991.tb05886.x
- SILLS, J. A. et al. XXX syndrome associated with immunoglobulin deficiency and epilepsy. *The Journal of Pediatrics*. 1978, roč. 93, č. 3, s. 469–471. ISSN 0022-3476. DOI: 10.1016/s0022-3476(78)81166-4
- SIM, Joe C. et al. Familial cortical dysplasia caused by mutation in the mammalian target of rapamycin regulator NPRL3. *Annals of Neurology*. 2016, roč. 79, č. 1, s. 132–137. ISSN 1531-8249. DOI: 10.1002/ana.24502
- SMAJLAGIĆ, Dinka et al. Population prevalence and inheritance pattern of recurrent CNVs associated with neurodevelopmental disorders in 12,252 newborns and their parents. *European journal of human genetics: EJHG*. 2021, roč. 29, č. 1, s. 205–215. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/s41431-020-00707-7
- SNIJDERS, A. M. et al. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nature Genetics*. 2001, roč. 29, č. 3, s. 263–264. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng754
- SOLINAS-TOLDO, S. et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 1997, roč. 20, č. 4, s. 399–407. ISSN 1045-2257.
- SOMERVILLE, Martin J. et al. Severe expressive-language delay related to duplication of the Williams-Beuren locus. *The New England Journal of Medicine*. 2005, roč. 353, č. 16, s. 1694–1701. ISSN 1533-4406. DOI: 10.1056/NEJMoa051962
- SOMJEN, George G. Ion regulation in the brain: implications for pathophysiology. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and*

- Psychiatry*. 2002, roč. 8, č. 3, s. 254–267. ISSN 1073-8584.
DOI: 10.1177/1073858402008003011
- SØNDERBY, Ida E. et al. Effects of copy number variations on brain structure and risk for psychiatric illness: Large-scale studies from the ENIGMA working groups on CNVs. *Human Brain Mapping*. 2021. ISSN 1097-0193. DOI: 10.1002/hbm.25354
- SPEED, Doug et al. Describing the genetic architecture of epilepsy through heritability analysis. *Brain: A Journal of Neurology*. 2014, roč. 137, č. Pt 10, s. 2680–2689. ISSN 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awu206
- SPIERS, Helen et al. Methylomic trajectories across human fetal brain development. *Genome Research*. 2015, roč. 25, č. 3, s. 338–352. ISSN 1088-9051, 1549-5469. DOI: 10.1101/gr.180273.114
- STANKIEWICZ, Paweł a James R. LUPSKI. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends in genetics: TIG*. 2002, roč. 18, č. 2, s. 74–82. ISSN 0168-9525.
- STANKIEWICZ, Paweł et al. Genome architecture catalyzes nonrecurrent chromosomal rearrangements. *American Journal of Human Genetics*. 2003, roč. 72, č. 5, s. 1101–1116. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/374385
- STEINLEIN, O. K. et al. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature Genetics*. 1995, roč. 11, č. 2, s. 201–203. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng1095-201
- STEINLEIN, Ortrud K. Channelopathies can cause epilepsy in man. *European Journal of Pain (London, England)*. 2002, roč. 6 Suppl A, s. 27–34. ISSN 1090-3801. DOI: 10.1053/eujp.2001.0319
- STEINMAN, Kyle J. et al. 16p11.2 deletion and duplication: Characterizing neurologic phenotypes in a large clinically ascertained cohort. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2016, roč. 170, č. 11, s. 2943–2955. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.37820
- STREHLOW, Vincent et al. Generalized Epilepsy and Myoclonic Seizures in 22q11.2 Deletion Syndrome. *Molecular Syndromology*. 2016, roč. 7, č. 4, s. 239–246. ISSN 1661-8769. DOI: 10.1159/000448445
- STRIANO, Pasquale. Clinical Significance of Rare Copy Number Variations in Epilepsy: A Case-Control Survey Using Microarray-Based Comparative Genomic Hybridization. *Archives of Neurology*. 2012, roč. 69, č. 3, s. 322. ISSN 0003-9942. DOI: 10.1001/archneurol.2011.1999
- STRUG, Lisa J. et al. Centrotemporal sharp wave EEG trait in rolandic epilepsy maps to Elongator Protein Complex 4 (ELP4). *European journal of human genetics: EJHG*. 2009, roč. 17, č. 9, s. 1171–1181. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/ejhg.2008.267
- STUTTERD, Chloe A. a Richard J. LEVENTER. Polymicrogyria: a common and heterogeneous malformation of cortical development. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. 2014, roč. 166C, č. 2, s. 227–239. ISSN 1552-4876. DOI: 10.1002/ajmg.c.31399
- SULLIVAN, Kathleen E. The clinical, immunological, and molecular spectrum of chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2004, roč. 4, č. 6, s. 505–512. ISSN 1528-4050. DOI: 10.1097/00130832-200412000-00006
- SYMONDS, Joseph D. a Amy MCTAGUE. Epilepsy and developmental disorders: Next generation sequencing in the clinic. *European journal of paediatric neurology: EJPN: official journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2020, roč. 24, s. 15–23. ISSN 1532-2130. DOI: 10.1016/j.ejpn.2019.12.008

- SZAFRANSKI, Przemyslaw et al. Structures and molecular mechanisms for common 15q13.3 microduplications involving CHRNA7: benign or pathological? *Human Mutation*. 2010, roč. 31, č. 7, s. 840–850. ISSN 1098-1004. DOI: 10.1002/humu.21284
- TAKEI, H., A. ASAKA a T. KURIHARA. [2 cases of triplo-X with epileptic seizure]. *No to Shinkei = Brain and Nerve*. 1969, roč. 21, č. 5, s. 523–532. ISSN 0006-8969.
- TAKENOUCI, Toshiki et al. Establishing SON in 21q22.11 as a cause a new syndromic form of intellectual disability: Possible contribution to Braddock-Carey syndrome phenotype. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2016, roč. 170, č. 10, s. 2587–2590. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.37761
- TAKIZAWA, T. et al. DNA methylation is a critical cell-intrinsic determinant of astrocyte differentiation in the fetal brain. *Developmental Cell*. 2001, roč. 1, č. 6, s. 749–758. ISSN 1534-5807. DOI: 10.1016/s1534-5807(01)00101-0
- TAN, Tiong Yang et al. Phenotypic variability of distal 22q11.2 copy number abnormalities. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2011, roč. 155A, č. 7, s. 1623–1633. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.34051
- TANG, Bor L. SNAREs and developmental disorders. *Journal of Cellular Physiology*. 2021, roč. 236, č. 4, s. 2482–2504. ISSN 0021-9541, 1097-4652. DOI: 10.1002/jcp.30067
- TARTAGLIA, Marco et al. Gain-of-function SOS1 mutations cause a distinctive form of Noonan syndrome. *Nature Genetics*. 2007, roč. 39, č. 1, s. 75–79. ISSN 1061-4036. DOI: 10.1038/ng1939
- TARTAGLIA, Nicole R. et al. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2010, roč. 5, s. 8. ISSN 1750-1172. DOI: 10.1186/1750-1172-5-8
- TASSANO, E. et al. 17q23.3 de novo microdeletion involving only TANC2 gene: A new case. *European Journal of Medical Genetics*. 2020, roč. 63, č. 12, s. 104094. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2020.104094
- TASSANO, E. et al. Clinical and molecular delineation of a 16p13.2p13.13 microduplication. *European Journal of Medical Genetics*. 2015, roč. 58, č. 3, s. 194–198. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.12.016
- THAKRAN, Sarita et al. Genetic Landscape of Common Epilepsies: Advancing towards Precision in Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, roč. 21, č. 20, s. 7784. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms21207784
- THAPAR, Anita, Miriam COOPER a Michael RUTTER. Neurodevelopmental disorders. *The Lancet. Psychiatry*. 2017, roč. 4, č. 4, s. 339–346. ISSN 2215-0374. DOI: 10.1016/S2215-0366(16)30376-5
- THOMAS, Rhys H. a Samuel F. BERKOVIC. The hidden genetics of epilepsy-a clinically important new paradigm. *Nature Reviews. Neurology*. 2014, roč. 10, č. 5, s. 283–292. ISSN 1759-4766. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.62
- THURESSON, A.-C. et al. Whole gene duplication of SCN2A and SCN3A is associated with neonatal seizures and a normal intellectual development. *Clinical Genetics*. 2017, roč. 91, č. 1, s. 106–110. ISSN 1399-0004. DOI: 10.1111/cge.12797
- TICK, Beata et al. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*. 2016, roč. 57, č. 5, s. 585–595. ISSN 1469-7610. DOI: 10.1111/jcpp.12499
- TOFFOLATTI, Luisa et al. Investigating the mechanism of chromosomal deletion: characterization of 39 deletion breakpoints in introns 47 and 48 of the human dystrophin gene. *Genomics*. 2002, roč. 80, č. 5, s. 523–530. ISSN 0888-7543.
- TOHYAMA, Jun et al. SPTAN1 encephalopathy: distinct phenotypes and genotypes. *Journal of Human Genetics*. 2015, roč. 60, č. 4, s. 167–173. ISSN 1435-232X. DOI: 10.1038/jhg.2015.5

- TOKITA, Mari J. et al. De Novo Truncating Variants in SON Cause Intellectual Disability, Congenital Malformations, and Failure to Thrive. *American Journal of Human Genetics*. 2016, roč. 99, č. 3, s. 720–727. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.06.035
- TORNIERO, Claudia et al. Cortical dysplasia of the left temporal lobe might explain severe expressive-language delay in patients with duplication of the Williams-Beuren locus. *European journal of human genetics: EJHG*. 2007, roč. 15, č. 1, s. 62–67. ISSN 1018-4813. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201730
- TORNIERO, Claudia et al. Dysmorphic features, simplified gyral pattern and 7q11.23 duplication reciprocal to the Williams-Beuren deletion. *European journal of human genetics: EJHG*. 2008, roč. 16, č. 8, s. 880–887. ISSN 1018-4813. DOI: 10.1038/ejhg.2008.42
- TRASK, B. J. et al. Members of the olfactory receptor gene family are contained in large blocks of DNA duplicated polymorphically near the ends of human chromosomes. *Human Molecular Genetics*. 1998, roč. 7, č. 1, s. 13–26. ISSN 0964-6906. DOI: 10.1093/hmg/7.1.13
- TRAUB, Roger D. et al. Gap junctions, fast oscillations and the initiation of seizures. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2004, roč. 548, s. 110–122. ISSN 0065-2598. DOI: 10.1007/978-1-4757-6376-8_9
- TRIVISANO, Marina et al. Defining the phenotype of FHF1 developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2020, roč. 61, č. 7, s. e71–e78. ISSN 0013-9580. DOI: 10.1111/epi.16582
- TROPEANO, Maria et al. Male-biased autosomal effect of 16p13.11 copy number variation in neurodevelopmental disorders. *PloS One*. 2013, roč. 8, č. 4, s. e61365. ISSN 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0061365
- TRUBETSKOY, Vassily et al. Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia. *Nature*. 2022, roč. 604, č. 7906, s. 502–508. ISSN 1476-4687. DOI: 10.1038/s41586-022-04434-5
- TURNER, Daniel J. et al. Germline rates of de novo meiotic deletions and duplications causing several genomic disorders. *Nature Genetics*. 2008, roč. 40, č. 1, s. 90–95. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.2007.40
- USHKARYOV, Y. A. et al. Neurexins: synaptic cell surface proteins related to the alpha-latrotoxin receptor and laminin. *Science (New York, N.Y.)*. 1992, roč. 257, č. 5066, s. 50–56. ISSN 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1621094
- VALENTE, Pierluigi et al. PRRT2 Is a Key Component of the Ca(2+)-Dependent Neurotransmitter Release Machinery. *Cell Reports*. 2016, roč. 15, č. 1, s. 117–131. ISSN 2211-1247. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.005
- VALTORTA, Flavia et al. PRRT2: from Paroxysmal Disorders to Regulation of Synaptic Function. *Trends in Neurosciences*. 2016, roč. 39, č. 10, s. 668–679. ISSN 1878-108X. DOI: 10.1016/j.tins.2016.08.005
- VALVO, Giulia et al. 22q11.2 Microduplication syndrome and epilepsy with continuous spikes and waves during sleep (CSWS). A case report and review of the literature. *Epilepsy & Behavior: E&B*. 2012, roč. 25, č. 4, s. 567–572. ISSN 1525-5069. DOI: 10.1016/j.yebeh.2012.09.035
- VAN DER AA, Nathalie et al. Fourteen new cases contribute to the characterization of the 7q11.23 microduplication syndrome. *European Journal of Medical Genetics*. 2009, roč. 52, č. 2–3, s. 94–100. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2009.02.006
- VANDERVER, Adeline et al. Identification of a novel de novo p.Phe932Ile KCNT1 mutation in a patient with leukoencephalopathy and severe epilepsy. *Pediatric Neurology*. 2014, roč. 50, č. 1, s. 112–114. ISSN 1873-5150. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.06.024

- VANLERBERGHE, Clémence et al. 15q11.2 microdeletion (BP1-BP2) and developmental delay, behaviour issues, epilepsy and congenital heart disease: a series of 52 patients. *European Journal of Medical Genetics*. 2015, roč. 58, č. 3, s. 140–147. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2015.01.002
- VELTMAN, Joris A. et al. High-throughput analysis of subtelomeric chromosome rearrangements by use of array-based comparative genomic hybridization. *American Journal of Human Genetics*. 2002, roč. 70, č. 5, s. 1269–1276. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/340426
- VERHEYEN, Sarah et al. Childhood-onset epileptic encephalopathy due to FGF12 exon 1-4 tandem duplication. *Neurology. Genetics*. 2020, roč. 6, č. 5, s. e494. ISSN 2376-7839. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000494
- VERHOEVEN, Willem M. A. et al. Adult male patient with severe intellectual disability caused by a homozygous mutation in the HNMT gene. *BMJ case reports*. 2020, roč. 13, č. 12, s. e235972. ISSN 1757-790X. DOI: 10.1136/bcr-2020-235972
- VERMEESCH, Joris R. et al. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Human Mutation*. 2012, roč. 33, č. 6, s. 906–915. ISSN 1098-1004. DOI: 10.1002/humu.22076
- WALDMAN, A. S. a R. M. LISKAY. Dependence of intrachromosomal recombination in mammalian cells on uninterrupted homology. *Molecular and Cellular Biology*. 1988, roč. 8, č. 12, s. 5350–5357. ISSN 0270-7306. DOI: 10.1128/mcb.8.12.5350
- WALLACE, R. H. et al. Neuronal sodium-channel alpha1-subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *American Journal of Human Genetics*. 2001, roč. 68, č. 4, s. 859–865. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1086/319516
- WALSH, Tom et al. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science (New York, N.Y.)*. 2008, roč. 320, č. 5875, s. 539–543. ISSN 1095-9203. DOI: 10.1126/science.1155174
- WANG, Jiao et al. Overexpression of Rho-GDP-dissociation inhibitor- γ inhibits migration of neural stem cells. *Journal of Neuroscience Research*. 2013, roč. 91, č. 11, s. 1394–1401. ISSN 1097-4547. DOI: 10.1002/jnr.23261
- WANG, Jie et al. Epilepsy-associated genes. *Seizure*. 2017, roč. 44, s. 11–20. ISSN 1059-1311. DOI: 10.1016/j.seizure.2016.11.030
- WANG, Qiu-Hong et al. Phenotypic characterization of COL4A1-related West syndrome. *Epilepsy Research*. 2020, roč. 164, s. 106349. ISSN 1872-6844. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2020.106349
- WANG, Ya-Nan et al. Controlling of glutamate release by neuregulin3 via inhibiting the assembly of the SNARE complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018, roč. 115, č. 10, s. 2508–2513. ISSN 1091-6490. DOI: 10.1073/pnas.1716322115
- WAWROCKA, Anna et al. PAX6 3' deletion in a family with aniridia. *Ophthalmic Genetics*. 2012, roč. 33, č. 1, s. 44–48. ISSN 1744-5094. DOI: 10.3109/13816810.2011.615076
- WESSEL, Karen et al. 17q23.2q23.3 de novo duplication in association with speech and language disorder, learning difficulties, incoordination, motor skill impairment, and behavioral disturbances: a case report. *BMC Medical Genetics*. 2017, roč. 18. ISSN 1471-2350. DOI: 10.1186/s12881-017-0479-3
- WEST, Anthony R., Matthew P. GALLOWAY a Anthony A. GRACE. Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: effector pathways and signaling mechanisms. *Synapse (New York, N.Y.)*. 2002, roč. 44, č. 4, s. 227–245. ISSN 0887-4476. DOI: 10.1002/syn.10076

- WETERINGS, Eric a Dik C. VAN GENT. The mechanism of non-homologous end-joining: a synopsis of synapsis. *DNA repair*. 2004, roč. 3, č. 11, s. 1425–1435. ISSN 1568-7864. DOI: 10.1016/j.dnarep.2004.06.003
- WILLEMSSEN, Marjolein H. et al. Epilepsy phenotype in individuals with chromosomal duplication encompassing FGF12. *Epilepsia Open*. 2020, roč. 5, č. 2, s. 301–306. ISSN 2470-9239. DOI: 10.1002/epi4.12396
- WILLIAMS, Stephen R. et al. Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *American Journal of Human Genetics*. 2010, roč. 87, č. 2, s. 219–228. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.07.011
- WILLIAMS, Stephen R. et al. Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *American Journal of Human Genetics*. 2010, roč. 87, č. 2, s. 219–228. ISSN 1537-6605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.07.011
- WISZNIEWSKI, Wojciech et al. Comprehensive genomic analysis of patients with disorders of cerebral cortical development. *European journal of human genetics: EJHG*. 2018, roč. 26, č. 8, s. 1121–1131. ISSN 1476-5438. DOI: 10.1038/s41431-018-0137-z
- WITHER, Robert G. et al. 22q11.2 deletion syndrome lowers seizure threshold in adult patients without epilepsy. *Epilepsia*. 2017, roč. 58, č. 6, s. 1095–1101. ISSN 1528-1167. DOI: 10.1111/epi.13748
- YAMAMOTO, Toshiyuki et al. Overlapping microdeletions involving 15q22.2 narrow the critical region for intellectual disability to NARG2 and RORA. *European Journal of Medical Genetics*. 2014, roč. 57, č. 4, s. 163–168. ISSN 1878-0849. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.02.001
- YEETONG, Patra et al. TTTCA repeat insertions in an intron of YEATS2 in benign adult familial myoclonic epilepsy type 4. *Brain: A Journal of Neurology*. 2019, roč. 142, č. 11, s. 3360–3366. ISSN 1460-2156. DOI: 10.1093/brain/awz267
- YIN, Jiani et al. Otud7a Knockout Mice Recapitulate Many Neurological Features of 15q13.3 Microdeletion Syndrome. *American Journal of Human Genetics*. 2018, roč. 102, č. 2, s. 296–308. ISSN 0002-9297. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.01.005
- YOSHIKAWA, Takeo, Tadahiko NAKAMURA a Kazuhiko YANAI. Histamine N-Methyltransferase in the Brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, roč. 20, č. 3, s. E737. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms20030737
- YOSHITOMI, Shinsaku et al. Three patients manifesting early infantile epileptic spasms associated with 2q24.3 microduplications. *Brain & Development*. 2015, roč. 37, č. 9, s. 874–879. ISSN 1872-7131. DOI: 10.1016/j.braindev.2015.03.001
- YU, Timothy W. et al. Mutations in WDR62, encoding a centrosome-associated protein, cause microcephaly with simplified gyri and abnormal cortical architecture. *Nature Genetics*. 2010, roč. 42, č. 11, s. 1015–1020. ISSN 1546-1718. DOI: 10.1038/ng.683
- YUAN, Shuai, Torbjörn TOMSON a Susanna C. LARSSON. Modifiable risk factors for epilepsy: A two-sample Mendelian randomization study. *Brain and Behavior*. 2021, roč. 11, č. 5, s. e02098. ISSN 2162-3279. DOI: 10.1002/brb3.2098
- ZARREI, Mehdi et al. A copy number variation map of the human genome. *Nature Reviews. Genetics*. 2015, roč. 16, č. 3, s. 172–183. ISSN 1471-0064. DOI: 10.1038/nrg3871
- ZHANG, Yanqing et al. Association of IMMP2L deletions with autism spectrum disorder: A trio family study and meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society*


- of Psychiatric Genetics*. 2018, roč. 177, č. 1, s. 93–100. ISSN 1552-485X.
DOI: 10.1002/ajmg.b.32608
- ZHAO, Wei-Wei. Intragenic deletion of RBFOX1 associated with neurodevelopmental/neuropsychiatric disorders and possibly other clinical presentations. *Molecular Cytogenetics*. 2013, roč. 6, č. 1, s. 26. ISSN 1755-8166.
DOI: 10.1186/1755-8166-6-26
- ZHAO, Xudong et al. The N-Myc-DLL3 cascade is suppressed by the ubiquitin ligase Huwe1 to inhibit proliferation and promote neurogenesis in the developing brain. *Developmental Cell*. 2009, roč. 17, č. 2, s. 210–221. ISSN 1878-1551.
DOI: 10.1016/j.devcel.2009.07.009
- ZHAO, Xudong et al. The HECT-domain ubiquitin ligase Huwe1 controls neural differentiation and proliferation by destabilizing the N-Myc oncoprotein. *Nature Cell Biology*. 2008, roč. 10, č. 6, s. 643–653. ISSN 1476-4679.
DOI: 10.1038/ncb1727
- ZHU, Xiaolin et al. Whole-exome sequencing in undiagnosed genetic diseases: interpreting 119 trios. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 2015, roč. 17, č. 10, s. 774–781. ISSN 1530-0366.
DOI: 10.1038/gim.2014.191
- ZHU, Yike et al. Bioinformatic analysis identifies potential key genes of epilepsy. *PLoS ONE*. 2021, roč. 16, č. 9, s. e0254326. ISSN 1932-6203.
DOI: 10.1371/journal.pone.0254326
- ZIFKIN, Benjamin, Eva ANDERMANN a Frederick ANDERMANN. Mechanisms, genetics, and pathogenesis of juvenile myoclonic epilepsy: review. *Current Opinion in Neurology*. 2005, roč. 18, č. 2, s. 147–153. ISSN 1350-7540.
DOI: 10.1097/01.wco.0000162856.75391.b1
- ZUFFARDI, O. et al. Inverted duplications deletions: underdiagnosed rearrangements?? *Clinical Genetics*. 2009, roč. 75, č. 6, s. 505–513. ISSN 1399-0004.
DOI: 10.1111/j.1399-0004.2009.01187.x
- ZUFFEREY, Flore et al. A 600 kb deletion syndrome at 16p11.2 leads to energy imbalance and neuropsychiatric disorders. *Journal of Medical Genetics*. 2012, roč. 49, č. 10, s. 660–668. ISSN 0022-2593. DOI: 10.1136/jmedgenet-2012-101203
- ZUNOVA, Hana et al. A unique coincidence of a 17q12 deletion and duplication in a Czech family led to a refined genotype-phenotype correlation. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2022. ISSN 1552-4833. DOI: 10.1002/ajmg.a.63085
- A National Profile of Childhood Epilepsy and Seizure Disorder | Pediatrics | American Academy of Pediatrics. In: [cit. 25.01.2023]. Dostupné z: <https://publications.aap.org/pediatrics/article/129/2/256/32570/A-National-Profile-of-Childhood-Epilepsy-and>
- ČLPE | Česká liga proti epilepsii. In: [cit. 24.03.2023]. Dostupné z: <https://www.clpe.cz/Disorder-Guides> [online] [cit. 19.01.2022]. Dostupné z: <https://rarechromo.org/disorder-guides/>

7 Přílohy

Zunova, Hana, Miroslav Stolfá, Tereza Kunikova, Drahuse Novotna, Radka Valkovicova, Katalin Štěřbová, a Marketa Vlckova. 2022. „A Unique Coincidence of a 17q12 Deletion and Duplication in a Czech Family Led to a Refined Genotype-Phenotype Correlation". *American Journal of Medical Genetics. Part A*. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63085>.

CASE REPORT

A unique coincidence of a 17q12 deletion and duplication in a Czech family led to a refined genotype–phenotype correlation

Hana Zunova¹  | Miroslav Stolfa¹ | Tereza Kunikova¹ | Drahusa Novotna¹ |
Radka Valkovicova² | Katalin Štěrbová² | Marketa Vlckova¹

¹Department of Biology and Medical Genetics, Second Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Charles University, Prague, Czech Republic

²Department of Pediatric Neurology, Second Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Charles University, Prague, Czech Republic

Correspondence

Hana Zunova, Department of Biology and Medical Genetics, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Charles University, V Uvalu 84, 15006 Prague 5, Czech Republic.
Email: zunovah@gmail.com

Funding information

Agency for Health Research of the Czech Republic (AZV ČR), Grant/Award Numbers: NU22-07-00165, NU20-04-00279; Faculty Hospital Motol, institutional support, Grant/Award Number: 00064203/6004; Ministry of Education, Youth and Sports, Grant/Award Number: LM2018132

Abstract

Chromosomal band 17q12 is a gene-rich region flanked by segmental duplications, making the region prone to deletions and duplications via the non-allelic homologous recombination mechanism. While deletions cause a well-described disorder with a specific phenotype called renal cysts and diabetes mellitus, the phenotype caused by reciprocal duplications is less specific, primarily because of variable expressivity, and incomplete penetrance. We present an unusual family with four children carrying the 17q12 microduplication inherited from their clinically healthy mother, who was a carrier of both the duplication and, interestingly, also of an atypical deletion of the 17q12 region. The duplication was inherited from her diabetic father and the deletion from her diabetic mother who also suffered from a renal disorder. Clinical manifestations in the family were variable, but all children showed some degree of a neurodevelopmental disorder, such as epilepsy, intellectual disability, delayed speech development, or attention deficit disorder. The simultaneous occurrence of a deletion and duplication in the same chromosomal region in one family is very rare, and to our knowledge, individuals carrying both a deletion and a duplication of this region have never been described.

KEYWORDS

17q12 deletion, 17q12 duplication, epilepsy, intellectual disability, *LHX1* gene

1 | INTRODUCTION

Chromosomal band 17q12 is a gene-rich region containing several segmental duplications that make this region prone to duplications and deletions via the non-allelic homologous recombination mechanism. The typical recurrent 1.4 Mb deletions and duplications affect the region between Mb 34.8 and 36.3 (GRCh37) and encompass 15 protein coding UCSC genes. The exact coordinates of breakpoints may vary based on array design used and due to copy number polymorphisms in the segmental duplications (Mitchel et al., 2016). The most commonly detected 1.4 Mb deletions and duplications contain one critical gene (*HNF1B*) and two putatively contributing genes, *LHX1* and *ACACA* (Rasmussen et al., 2016). The phenotype of typical 17q12 deletion carriers is characterized by a combination of renal

abnormalities and diabetes mellitus (*MODY5*). Besides the renal disease and *MODY5*, hepatic disorders have also been described (Clissold et al., 2015; El-Khairi & Vallier, 2016). Several authors reported 17q12 deletions as potentially causal for Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome (MRKH) (Bernardini et al., 2009; Hinkes et al., 2012; Ledig & Wieacker, 2018; Sandbacka et al., 2013). The expressivity is variable and penetrance is not complete. In the last two decades, deletions in the 17q12 region have been associated with neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders (NDDs/NPDs). (Dixit et al., 2012; George et al., 2012; Moreno-De-Luca et al., 2010; Palumbo et al., 2014; Roberts et al., 2014). Other genes, especially *LHX1*, *MIR2929*, and *ACACA* (Moreno-De-Luca et al., 2010; Palumbo et al., 2014), located in the minimal critical region seem to contribute to NDDs. This hypothesis was supported by phenotypes of patients

with a point mutation in the *HNF1B* gene, who did not have NDDs, in contrast to patients with deletion of the entire 17q12 region. Phenotypes of individuals with 17q12 duplications are also variable and show incomplete penetrance. The most common features are global developmental delay, intellectual disability (ID), behavioral disorders, learning difficulties, attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), epilepsy, autism spectrum disorders (ASD), and an increased risk of schizophrenia. Duplications are also thought to be causal for esophageal atresia (EA) (Faguer et al., 2011; Smigiel et al., 2014). Facial dysmorphism is described as nonspecific, and in many cases, no facial dysmorphism is observed (Bertini et al., 2015; Bierhals et al., 2013; Brandt et al., 2012; Faguer et al., 2011; Hardies et al., 2013; Kamath et al., 2018; Mitchell et al., 2015; Rasmussen et al., 2016). Unlike deletions, duplications have been detected in healthy individuals and control groups. According to Rosenfeld et al. (2013), the de novo origin of 17q12 duplications is estimated to be 22.2% and the penetrance of phenotypic traits is 21.1%. In the context of the epileptic phenotype, the *ACACA* gene is potentially causal. Moreover, according to Bertini et al. (2015), *ACACA* duplication could be a risk factor for obesity (Bertini et al., 2015). The summary of phenotypic features observed in 83 published individuals with 17q12 duplications is shown in Table S1. Here we present a family with a coincident atypical deletion and recurrent duplication of the 17q12 region showing different phenotypic manifestations among the family members. We also report on a unique family member carrying both aberrations who is clinically healthy, except for obesity.

2 | CLINICAL REPORT

The index case (individual III/4) was the third child of healthy unrelated Caucasian parents. He was born at term by elective Cesarean section. His birth weight was 3.100 g (36th centile), birth length was 47 cm (<10th centile), and the Apgar score was 10–10–10. The newborn period was uneventful except for jaundice. He achieved motor milestones at the proper time, but his speech was delayed (first words at the age of 1.5 years and simple sentences at the age of 3 years). At the age of 3 years, the first episode of seizures occurred (a prolonged left-sided clonic seizure with unconsciousness during a febrile illness). At the age of 6 years, an episode of unresponsiveness lasting 1 h occurred, possibly a nonconvulsive status, but EEG verification is missing. Anti-seizure treatment with valproic acid (VPA) was started. The treatment was discontinued after a 2-year seizure-free period; the boy was then seizure-free for another 3 years. At the age of 11 years, he was found with a generalized clonic seizure evolving into status epilepticus lasting 75 min during a febrile illness. He had to be intubated and admitted to an intensive care unit. After this status epilepticus, antiseizure treatment with VPA was resumed. At the last examination at the age of 15 years the boy was seizure-free and diagnosed with mild ID. The physical examination revealed severe obesity (his weight 125.6 kg, >99th centile, 4.32 SD), height was 177.5 cm (63th centile, 0.34 SD), head circumference was 56.3 cm (59th centile, 0.01 SD). Neurological examination was normal. Three siblings of the

index case (individuals III/1, III/2, and III/5; Figure 1a) suffered from NDDs of variable severity and other anomalies. The oldest sister (III/1) underwent surgical EA correction. At the age of 4 years, she was admitted to our neurological unit after lateralized convulsions with loss of consciousness followed by right-sided hemiparesis. Subsequently, severe meningoencephalitis was identified as a possible cause of the seizures. She was seizure-free at the last check-up but suffered from hypothyreosis and was treated with substitution drugs. She was also diagnosed with mild ID. The other sister (III/2) showed delayed language development and mild ID. Her physical examination revealed myopia. The maternal half-brother of the index case (III/5) was diagnosed with developmental delay, ADHD, and mild ID. All four siblings are regularly followed up by a psychologist for educational purposes and their ID status is tested using Wechsler scales (but the exact IQ value was not reported). The mother of the index case (II/2) is healthy except for obesity and her intelligence is described as low to average, but she had never been formally tested by a psychologist. The grandmother of the index case (I/2) was diagnosed with unspecified renal disease and insulin-dependent diabetes mellitus at the age of 45 years (more detailed data are missing). The grandfather (I/1) was treated for type 2 diabetes mellitus (DM2), diagnosed at the age of 53 years. He died at the age of 66 years because of sepsis. Both grandparents were described as having normal intelligence, but neither of them has been examined by a psychologist. No significant dysmorphic features were apparent during the last check-up. Phenotypes of all family members are summarized in Table 1 and photographs are in Figure 1b.

3 | METHODS

Informed consent with genetic analyses was obtained from all family members or their legal representatives. All participants were informed about the study and signed a consent form approved by the local Ethics Committee. DNA was extracted from peripheral blood. Array comparative genome hybridization (CGH) was performed using the commercially available oligonucleotide microarray platform ISCA 4×180 K (SurePrint CGH 4×180K G3 ISCA; Agilent Technologies, United States) according to the manufacturer's instructions. Data were analyzed using CytoGenomics software version 4.0.3.12. (Agilent Technologies, United States). The analysis of the clinical impact of deletions and duplications used the UCSC Genome Browser, DECIPHER, ClinVar, ClinGen, OMIM, and DGV databases. All coordinates in this report correspond to genome build GRCh37.

4 | RESULTS

Array CGH analysis of the index case detected a 1.43 Mb duplication in interstitial region 17q12 [GRCh37] 17q12(34419132×2, 34817422_36248918×3, 36477220×2) (DECIPHER 454762; Figure 1c). The duplication contained 15 protein coding UCSC genes. To determine the origin of the aberration and its possible segregation

TABLE 1 Summary of array CGH data, basic clinical information on family members, and frequency of phenotype traits in published cases

Patient ID	I/1	I/2	II/1	III/1	III/2	III/4/5	III/5	Frequency of phenotypes traits in carriers of typical 17q12 duplications (from Table S1)	Frequency of phenotypes traits in carriers of typical 17q12 deletions (from Mitchell et al., 2016)
Type of the variant(s)	Dup	Del	Dup/del	Dup	Dup	Dup	Dup		
Coordinates (GRCh37)	34817418	36041321	34817418	34817418	34817418	34817418	34817418		
	36248918	36777884	35958820	36248918	36248918	36248918	36248918		
Start			Del 36455361						
Stop			Del 36777884						
Age	63 years 8 months	63 years 11 months	38 years	17 years 8 months	16 years 6 months	15 years	7 years		
Gender	M	F	F	F	F	M	M		
Growth parameters									
Height	174	158	164	170	168	177.5	126.6		
Centile (SD)	18 (-0.90)	7 (1.47)	30 (-0.52)	69 (0.48)	57 (0.17)	63 (0.34)	48 (-0.04)	Usually in normal range	IUGR in pregnancy ^d
Weight	80	85	100	96.2	76.5	125	24.6		Macrocephaly ^e
Centile (SD)	89 (0.96)	>99 (2.91)	>99 (3.59)	>99 (3.38)	98 (2.05)	>99 (4.32)	48 (-0.05)		
Head circumference	NK	NK	55.8	55.7	55.5	56.3	49.8		
Centile (SD)	NK	NK	69 (0.49)	67 (0.43)	63 (0.34)	59 (0.24)	4 (-1.71)		
Neurodevelopmental level									
Motor milestones	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Delayed	33%	68%
Speech delay	No	No	No	No	Yes	Yes	No	48%	78%
Seizures	No	No	No	One episode	No	Yes	No	18%	14%
Intellectual disability	No	No	Borderline	Mild	Mild	Mild	Mild	58%	>50%
Neurological, psychiatric problems, behavioral abnormalities, autistic traits	No	No	No	No	No	No	Yes	43%	ASD (9%)
Education level/social status									
Achieved education level	Vocational school	Vocational school	Vocational school	Vocational school ^a	Vocational school ^a	Vocational school ^a	Primary school ^a	NA	NA
Self-sufficiency	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	NA	NA	NA	NA
Employed as	Bricklayer	Seamstress	Waitress	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Other involvement									
Esophageal atresia or other abnormality	No	No	No	Yes	No	No	No	7%	NA
Visual impairment	No	No	No	No	Myopia	No	No	16%	41%
Renal function ^b	Normal (incl. USG)	Abnormal	Normal	Normal (incl. USG)	Normal	Normal	Normal	12%	91%
Diabetes type II	Yes	Yes	No	No	No	No	No	4%	50%

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Patient ID	I/1	I/2	II/1	III/1	III/2	III/4/5	III/5	Frequency of phenotypes traits in carriers of typical 17q12 duplications (from Table S1)	Frequency of phenotypes traits in carriers of typical 17q12 deletions (from Mitchell et al., 2016)
Infertility	No	No	No	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Significant dysmorphic features	No	No	No	No	No	No	No	31%	>50%
Other congenital malformations	No	No	No	No	No	No	No	19%	20%–53% ^c

Abbreviations: NA, not applicable; NK, not known; NR, not reported.

^aStill studying.

^bRenal function was evaluated using serum level of urea and creatinine and urine level of proteinuria and hematuria; incl. USG, including renal ultrasound.

^cHyperparathyroidism (53%), genital abnormalities (25%–33%), brain structure findings (26%), short stature (23%), gastrointestinal abnormalities (<25%), abnormality of pancreas (30%), congenital cardiac anomalies (20%), structural and functional liver abnormalities (48%).

^dUNIQUE [online]: 17q12 microdeletions, Rare Chromosome Disorder Support Group, 2022 [2022-07-14]. Available: <https://rarechromo.org/disorder-guides>.

^eMitchel et al., 2016.

in the family, array CGH was performed in the mother of the index case (the father's DNA was not available for testing) and in all siblings. The same 17q12 duplication was identified in all siblings. The mother (II/2; DECIPHER 454765) carried a slightly smaller duplication of ~1.1 Mb. However, array CGH detected also a deletion of a size between 351 and 529 kb distal to the duplication (arr[GRCh37] 17q12(36248918×2, 36425975_36777884×1, 36810374×2)). Considering the upper limit of the deletion, the duplication and the deletion were separated by a ~300 kb large diploid region containing three protein coding UCSC genes. This led us to the assumption that the mother may carry a duplication on one allele and a deletion on the other allele. The hypothesis was verified using array CGH which identified the duplication observed in the index case also in the mother's father (I/1), while a deletion of 794 kb was present in the mother's mother (II/2; DECIPHER 454763) (Figure 1c). The deletion is atypical, it is located distal to the region of typical recurrent 17q12 deletions with which it only partly overlaps, and encompasses a total of 10 genes but only one gene of interest, *HNF1B*.

5 | DISCUSSION

We report a unique family with a concurrent deletion and duplication of the 17q12 region and a variable clinical impact. Six of the seven family members tested (grandfather I/1, mother II/2, and four children III/1, III/2, III/4, and III/5) carried the typical 1.4 Mb duplication of 17q12 encompassing 15 protein coding genes. One member (the grandmother, I/2) had an atypical 794 kb deletion, including 10 protein coding UCSC genes, one of which is a gene of interest, *HNF1B*, and one family member (the mother, II/2) had both the deletion and the duplication (Figure 1a,c). The grandmother with the atypical deletion suffered from an unspecified renal disorder and DM2 but had no other issues. There is only one patient in DECIPHER database (ID:454763), carrying an identical deletion. The phenotype of the published patient includes DM 2 and chronic kidney disease. The medical condition of the grandmother could be explained by the deletion, especially the deletion of the *HNF1B* gene, which was previously proposed as a causal gene for renal cysts and diabetes mellitus. Several authors have reported the typical 17q12 deletions as potentially causal for MRKH (Bernardini et al., 2009; Hinkes et al., 2012; Ledig & Wieacker, 2018; Sandbacka et al., 2013), and *HNF1B* and *LHX1* are expected to be the responsible genes (Ledig et al., 2011; Ledig & Wieacker, 2018). Both genes are implicated in female reproductive tract development. However, the grandmother was fertile without any signs of MRKH, and her atypical 17q12 deletion affected only *HNF1B* and *GPR179*. Therefore we assume that a deletion of *HNF1B* is probably not causing MRKH, which leaves *LHX1* as a strong candidate gene. Our hypothesis can be supported by mouse models showing that *LHX1* knockout leads to mice without uterus and the upper part of the vagina (Kobayashi et al., 2004), and by the observation that frameshift mutations of *LHX1* are associated with MRKH (Ledig et al., 2012). In the five members of the family carrying only the 17q12 duplication, we observed variable phenotypes concordant with

the literature. One of these phenotypic features is EA, which was diagnosed in one of the siblings (III/1). EA and other esophageal abnormalities have been described in several patients with 17q12 duplication (Bierhals et al., 2013; Faguer et al., 2011; Nagamani et al., 2010; Rasmussen et al., 2016; Smigiel et al., 2014), and *TADA2F* and *AATF* genes have been suggested as causative (Smigiel et al., 2014). Both these genes are included in the duplication observed in the family. Nevertheless, the remaining five carriers showed no signs of EA, which supports the incomplete penetrance observed previously. The grandfather (I/1) with the duplication was diagnosed with DM2, but this could also be explained by his age, because there are only two reported cases of people with DM2 and the 17q12 duplication, and both of them are elderly (Kamath et al., 2018). Developmental and neurological abnormalities are reported in most studies (Bertini et al., 2015; Bierhals et al., 2013; Brandt et al., 2012; Mencarelli et al., 2008; Mitchell et al., 2015; Nagamani et al., 2010; Rasmussen et al., 2016). Mitchell et al., 2015 published a study of 32 patients with the recurrent 1.4 Mb duplications from 30 families, the majority of whom (25/32) were diagnosed with ID. Even though the *LHX1* gene appears to play an important role, detailed studies of its role in NDDs have not been performed yet. The gene is primarily expressed in the brain and is essential for the differentiation of Purkinje cells in the cerebellum (Zhao et al., 2007). It has also been suggested that 17q12 deletions could lead to NDDs/NPDs, but as we noted, individual I/2 in our study did not suffer from any NDDs/NPDs. Therefore it is likely that CNV (copy number variation) of *LHX1* or other genes from the region other than *HNF1B* are necessary for the development of NDDs/NPDs, as indicated also by lack of these disorders in patients with intragenic *HNF1B* mutations. The presence of 17q12 rearrangements in epilepsy has never been systematically studied previously. Hardies et al., 2013 described 17q12 duplications as a potential cause of febrile seizures and generalized epilepsy with febrile seizures. Epilepsy has also been described in patients in other studies (Bierhals et al., 2013; Kamath et al., 2018; Mefford et al., 2007; Mitchell et al., 2015; Rasmussen et al., 2016). The type of epilepsy was not consistent among these studies; except for Mefford et al. (2007) and Bierhals et al. (2013), the type of epilepsy was not specified. Patients from these two studies were diagnosed with focal complex seizures and, in one case, with generalized tonic and myoclonic seizures. Seizures accompanying 17q12 duplications do not appear to be specific for one type of epilepsy. The *ACACA* gene is considered to be potentially causal for epilepsy. The gene encodes alpha acetyl-CoA carboxylase, which is essential for the body's normal utilization and biosynthesis of fats (López-Casillas et al., 1988). *ACACA* duplication leads to overexpression resulting in increased consumption of acetyl-CoA with consequent energy depletion in the brain and reduced neurotransmitter production (Hardies et al., 2013). Only one of the sibs carrying the 17q12 duplication (III/4) was diagnosed with epilepsy, and other genetic modifiers and environmental factors probably play a role in the presentation and outcome of epilepsy in the duplication carriers. One episode of seizures was also presented in III/1, but severe

meningoencephalitis could be the cause, although the role of the 17q12 duplication cannot be excluded. The mother (II/2) carried the 17q12 duplication on one of her chromosomes and the deletion on the other one, and she was noted as having low to average intelligence. She had three copies of *ACACA* and *LHX1* and two copies of *HNF1B*, although both copies were of paternal origin. This is equivalent to uniparental disomy (UPD) but there is no evidence that the 17q12 region or the *HNF1B* gene are imprinted; therefore, the impact of UPD on her phenotype remains unclear.

6 | CONCLUSION

Our index case was diagnosed with epilepsy, mild ID, delayed language development, and obesity. His three siblings with the same duplication had a similar phenotype with less severe manifestations regarding the epilepsy, and, interestingly, his grandfather with the same duplication was not diagnosed with ID. The likely explanations for the variable phenotype within one family are incomplete penetrance and variable expressivity. These features and the fact that the duplication is often inherited from a healthy parent make clinical interpretation very challenging. Also, many patients with 17q12 duplications can escape attention because of the lack of phenotypic abnormalities. Despite this, 17q12 duplications definitely increase the risk of NDDs, including epilepsy. CNVs in this region may allow their carriers to achieve self-sufficiency and independent life, which could be very important for clinical decisions.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Hana Zunova acquired the study data, processed the sample in the laboratory, analyzed the data, and wrote the initial manuscript draft. Miroslav Stolfa, analyzed the data; Tereza Kunikova processed the sample in the laboratory; Drahuse Novotna critically revised the manuscript. Kunikova Valkovicova, Katalin Sterbova processed clinical assessment of epilepsy phenotype. Marketa Vlckova prepared clinical data and critically revised the manuscript. All authors provided edits for final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the family and for their interest and participation in this study. This work was supported by grants: Agency for Health Research of the Czech Republic (AZV ČR) NU20-04-00279 and AZV NU22-07-00165; Faculty Hospital Motol, institutional support 00064203/6004; Ministry of Education, Youth and Sports (LM2018132).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data about detected aberration and phenotype of patients are available online at database DECIPHER with ID454762, ID454763, and ID454765. Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section or from the corresponding author upon request.

ORCID

Hana Zunova  <https://orcid.org/0000-0002-1136-7188>

REFERENCES

- Bernardini, L., Gimelli, S., Gervasini, C., Carella, M., Baban, A., Frontino, G., Barbano, G., Divizia, M., Fedele, L., Novelli, A., Béna, F., Lalatta, F., Miozzo, M., & Dallapiccola, B. (2009). Recurrent microdeletion at 17q12 as a cause of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) syndrome: Two case reports. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 4, 25. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-4-25>
- Bertini, V., Orsini, A., Bonuccelli, A., Cambi, F., Del Pistoia, M., Vannozzi, I., Toschi, B., Saggese, G., Simi, P., & Valetto, A. (2015). 17q12 microduplications: A challenge for clinicians. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 167A, 674–676. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36905>
- Bierhals, T., Maddukuri, S. B., Kutsche, K., & Girisha, K. M. (2013). Expanding the phenotype associated with 17q12 duplication: Case report and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 161A, 352–359. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35730>
- Brandt, T., Desai, K., Grodberg, D., Mehta, L., Cohen, N., Tryfon, A., Kolevzon, A., Soorya, L., Buxbaum, J. D., & Edelman, L. (2012). Complex autism spectrum disorder in a patient with a 17q12 microduplication. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 158A, 1170–1177. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35267>
- Clissold, R. L., Hamilton, A. J., Hattersley, A. T., Ellard, S., & Bingham, C. (2015). HNF1B-associated renal and extra-renal disease—an expanding clinical spectrum. *Nature Reviews. Nephrology*, 11, 102–112. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.232>
- Dixit, A., Patel, C., Harrison, R., Jarvis, J., Hulton, S., Smith, N., Yates, K., Silcock, L., McMullan, D. J., & Suri, M. (2012). 17q12 microdeletion syndrome: Three patients illustrating the phenotypic spectrum. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 158A, 2317–2321. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35520>
- El-Khairi, R., & Vallier, L. (2016). The role of hepatocyte nuclear factor 1β in disease and development. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 18(Suppl 1), 23–32. <https://doi.org/10.1111/dom.12715>
- Faguer, S., Chassaing, N., Bandin, F., Prouheze, C., Arveiler, B., Rooryck, C., Nogier, M.-B., Chauveau, D., Calvas, P., & Decramer, S. (2011). A 17q12 chromosomal duplication associated with renal disease and esophageal atresia. *European Journal of Medical Genetics*, 54, e437–e440. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2011.03.010>
- George, A. M., Love, D. R., Hayes, I., & Tsang, B. (2012). Recurrent transmission of a 17q12 microdeletion and a variable clinical Spectrum. *Molecular Syndromology*, 2, 72–75.
- Hardies, K., Weckhuysen, S., Peeters, E., Holmgren, P., Van Esch, H., De Jonghe, P., Van Paesschen, W., & Suls, A. (2013). Duplications of 17q12 can cause familial fever-related epilepsy syndromes. *Neurology*, 81, 1434–1440. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a84163>
- Hinkes, B., Hilgers, K. F., Bolz, H. J., Goppelt-Struebe, M., Amann, K., Nagl, S., Bergmann, C., Rascher, W., Eckardt, K.-U., & Jacobi, J. (2012). A complex microdeletion 17q12 phenotype in a patient with recurrent de novo membranous nephropathy. *BMC Nephrology*, 13, 27. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-27>
- Kamath, A., Linden, S. C., Evans, F. M., Hall, J., Jose, S. F., Spillane, S. A., Hardie, A. D. R., Morgan, S. M., & Pilz, D. T. (2018). Chromosome 17q12 duplications: Further delineation of the range of psychiatric and clinical phenotypes. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics*, 177, 520–528. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32643>
- Kobayashi, A., Shawlot, W., Kania, A., & Behringer, R. R. (2004). Requirement of Lim1 for female reproductive tract development. *Development*, 131, 539–549. <https://doi.org/10.1242/dev.00951>
- Ledig, S., & Wieacker, P. (2018). Clinical and genetic aspects of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Medizinische Genetik*, 30, 3–11. <https://doi.org/10.1007/s11825-018-0173-7>
- Ledig, S., Schippert, C., Strick, R., Beckmann, M. W., Oppelt, P. G., & Wieacker, P. (2011). Recurrent aberrations identified by array-CGH in patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertility and Sterility*, 95, 1589–1594. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.07.1062>
- Ledig, S., Brucker, S., Barresi, G., Schomburg, J., Rall, K., & Wieacker, P. (2012). Frame shift mutation of LHX1 is associated with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Human Reproduction*, 27, 2872–2875. <https://doi.org/10.1093/humrep/des206>
- López-Casillas, F., Bai, D. H., Luo, X. C., Kong, I. S., Hermodson, M. A., & Kim, K. H. (1988). Structure of the coding sequence and primary amino acid sequence of acetyl-coenzyme A carboxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85, 5784–5788. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.16.5784>
- Mefford, H. C., Clauin, S., Sharp, A. J., Moller, R. S., Ullmann, R., Kapur, R., Pinkel, D., Cooper, G. M., Ventura, M., Ropers, H. H., Tommerup, N., Eichler, E. E., & Bellanne-Chantelot, C. (2007). Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy. *American Journal of Human Genetics*, 81, 1057–1069. <https://doi.org/10.1086/522591>
- Mencarelli, M. A., Katzaki, E., Papa, F. T., Sampieri, K., Caselli, R., Uliana, V., Pollazzon, M., Canitano, R., Mostardini, R., Grosso, S., Longo, I., Ariani, F., Meloni, I., Hayek, J., Balestri, P., Mari, F., & Renieri, A. (2008). Private inherited microdeletion/microduplications: Implications in clinical practice. *European Journal of Medical Genetics*, 51, 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2008.06.003>
- Mitchel, M. W., Moreno-De-Luca, D., Myers, S. M., Levy, R. V., Turner, S., Ledbetter, D. H., & Martin, C. L. (2016). 17q12 recurrent deletion syndrome [updated 2020 Oct 15]. In M. P. Adam, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, B. L. H. K. W. Gripp, & A. Amemiya (Eds.), *GeneReviews® [Internet]*. University of Washington, Seattle (1993–2022).
- Mitchell, E., Douglas, A., Kjaegaard, S., Callewaert, B., Vanlander, A., Janssens, S., Yuen, A. L., Skinner, C., Failla, P., Alberti, A., Avola, E., Fichera, M., Kibaek, M., Digilio, M. C., Hannibal, M. C., den Hollander, N. S., Bizzarri, V., Renieri, A., Mencarelli, M. A., ... Mefford, H. C. (2015). Recurrent duplications of 17q12 associated with variable phenotypes. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 167A, 3038–3045. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37351>
- Moreno-De-Luca, D., SGENE Consortium, Mülle, J. G., Simons Simplex Collection Genetics Consortium, Kaminsky, E. B., Sanders, S. J., GeneSTAR, Myers, S. M., Adam, M. P., Pakula, A. T., Eisenhauer, N. J., Uhas, K., Weik, L., Guy, L., Care, M. E., Morel, C. F., Boni, C., Salbert, B. A., Chandrareddy, A., ... Ledbetter, D. H. (2010). Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, 87, 618–630. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.10.004>
- Nagamani, S. C. S., Erez, A., Shen, J., Li, C., Roeder, E., Cox, S., Karaviti, L., Pearson, M., Kang, S.-H. L., Sahoo, T., Lalani, S. R., Stankiewicz, P., Sutton, V. R., & Cheung, S. W. (2010). Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome 17q12. *European Journal of Human Genetics*, 18, 278–284. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.174>
- Palumbo, P., Antona, V., Palumbo, O., Piccione, M., Nardello, R., Fontana, A., Carella, M., & Corsello, G. (2014). Variable phenotype in 17q12 microdeletions: Clinical and molecular characterization of a new case. *Gene*, 538, 373–378. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.01.050>
- Rasmussen, M., Vestergaard, E. M., Graakjaer, J., Petkov, Y., Bache, I., Fagerberg, C., Kibaek, M., Svaneby, D., Petersen, O. B., Brasch-Andersen, C., & Sunde, L. (2016). 17q12 deletion and duplication syndrome in Denmark—a clinical cohort of 38 patients and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 170, 2934–2942. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37848>
- Roberts, J. L., Gandomi, S. K., Parra, M., Lu, I., Gau, C.-L., Dasouki, M., & Butler, M. G. (2014). Clinical report of a 17q12 microdeletion with

- additionally unreported clinical features. *Case Reports in Genetics*, 2014, 264947. <https://doi.org/10.1155/2014/264947>
- Rosenfeld, J. A., Coe, B. P., Eichler, E. E., Cuckle, H., & Shaffer, L. G. (2013). Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genetics in Medicine*, 15, 478–481. <https://doi.org/10.1038/gim.2012.164>
- Sandbacka, M., Laivuori, H., Freitas, É., Halttunen, M., Jokimaa, V., Morin-Papunen, L., Rosenberg, C., & Aittomäki, K. (2013). TBX6, LHX1 and copy number variations in the complex genetics of Müllerian aplasia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 8, 125. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-125>
- Smigiel, R., Marcelis, C., Patkowski, D., de Leeuw, N., Bednarczyk, D., Barg, E., Mascianica, K., Maria Sasiadek, M., & Brunner, H. (2014). Oesophageal atresia with tracheoesophageal fistula and anal atresia in a patient with a de novo microduplication in 17q12. *European Journal of Medical Genetics*, 57, 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2013.10.007>
- Zhao, Y., Kwan, K.-M., Mailloux, C. M., Lee, W.-K., Grinberg, A., Wurst, W., Behringer, R. R., & Westphal, H. (2007). LIM-homeodomain proteins

Lhx1 and Lhx5, and their cofactor Ldb1, control Purkinje cell differentiation in the developing cerebellum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 13182–13186. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705464104>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Zunova, H., Stolfá, M., Kunikova, T., Novotná, D., Valkovicová, R., Štěrbová, K., & Vlčková, M. (2023). A unique coincidence of a 17q12 deletion and duplication in a Czech family led to a refined genotype–phenotype correlation. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 191A:870–877. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63085>