

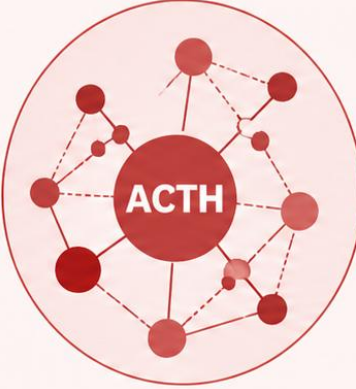
ACTH Tedavisinin Genetik Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati Tanılı Hastalarda Nöbet Kontrolüne Etkisi

Dr. Çisem Duman Kayar¹, Dr. Sinan Akbaş², Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Akif Kılıç¹, Prof. Dr. Edibe Pembegül Yıldız¹

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Nöroloji Bilim Dalı

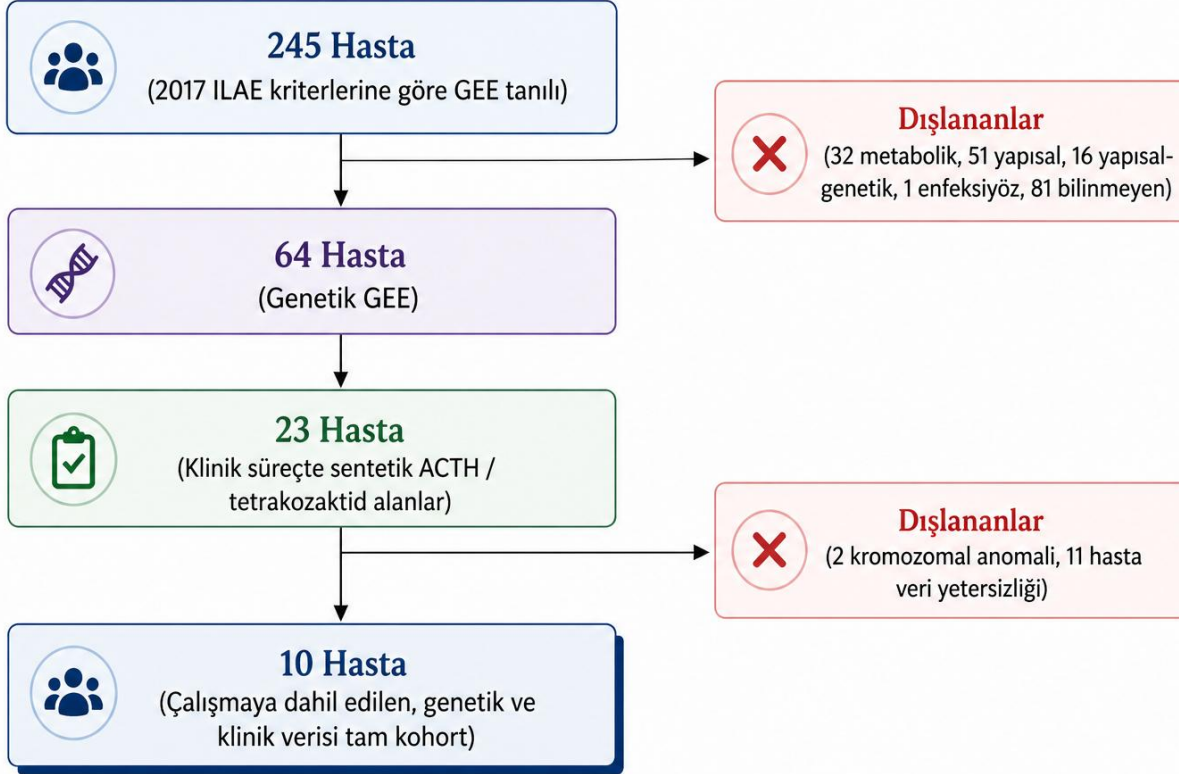
²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kanuni Sultan Süleyman EAH, Tıbbi Genetik Bilim Dalı

Amaç

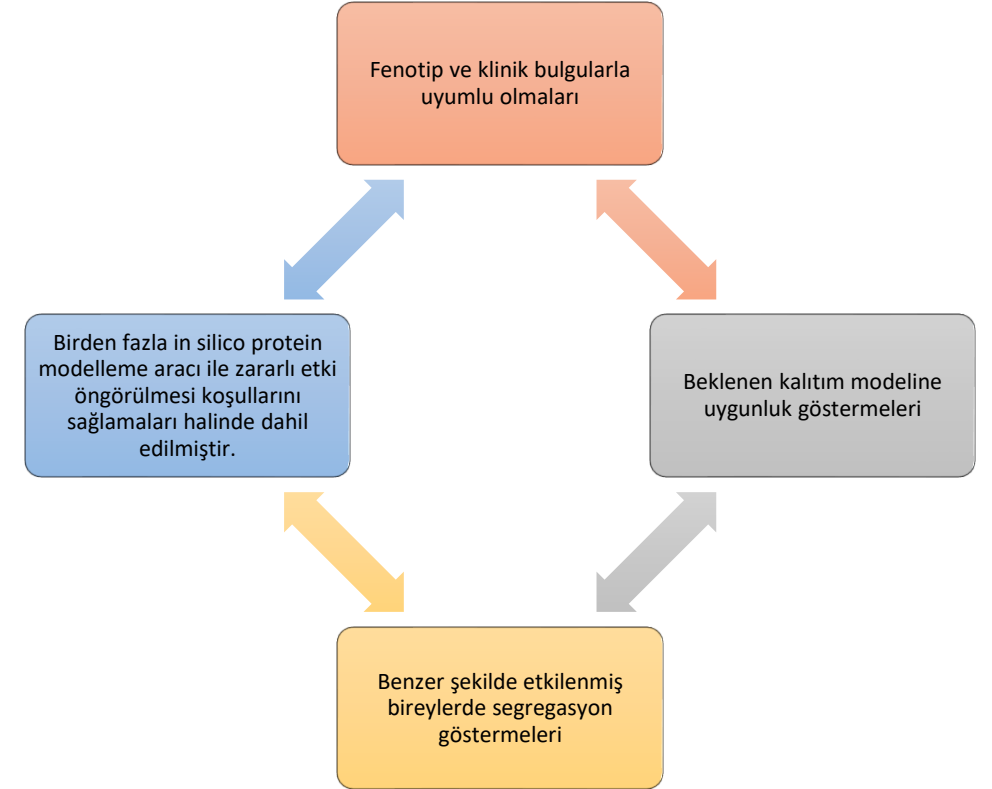


Bu çalışma, genetik olarak doğrulanmış **gelişimsel ve epileptik ensefalopati (GEE)**'li hastalarda ACTH'nin etkinliğini değerlendirmeyi ve belirli varyantların ACTH ile ilişkili **protein etkileşim ağlarını** inceleyerek hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarına katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

Yöntem



VUS Dahil Edilme Kriterleri



Sentetik ACTH (tetrakozaktid; Synacthen®) uygulama protokolü¹



Etkinlik Değerlendirmesi

Nöbet sıklığı, bakım veren gözlemlerine göre ve baskın nöbet tipi üzerinden değerlendirildi.

Tedavi öncesindeki, tedavi sonrası 14. gün (kısa dönem) ve 3. ayda (orta dönem), günlük nöbet sayısı, EEG zemin aktivitesi ve epileptiform deşarj özellikleri kaydedildi.

YANIT KRİTERLERİ



Genetik Analiz

VARYANT SINIFLAMASI

ACMG ve ClinGen önerileri

Ebeveyn segregasyonları

In silico protein modelleme

PROTEİN PROTEİN ETKİLEŞİMİ (PPI)

KEGG yolak haritası

Nöroaktif ligand–reseptör
(hsa04080)

Aldosteron sentez ve salgılama
(hsa04925)

Kortizol sentez ve salgılama
(hsa04927)

AĞ ANALİZİ VE GÖRSELLEŞTİRME

STRING
network

Confidence $\geq 0,7$

Deneyler + Veri tabanları

Cytoscape
3.10

Degree & betweenness
centrality

Prefuse force-directed
layout

FONKSİYONEL ANALİZ

GeneOntology – PanGO arayüzü

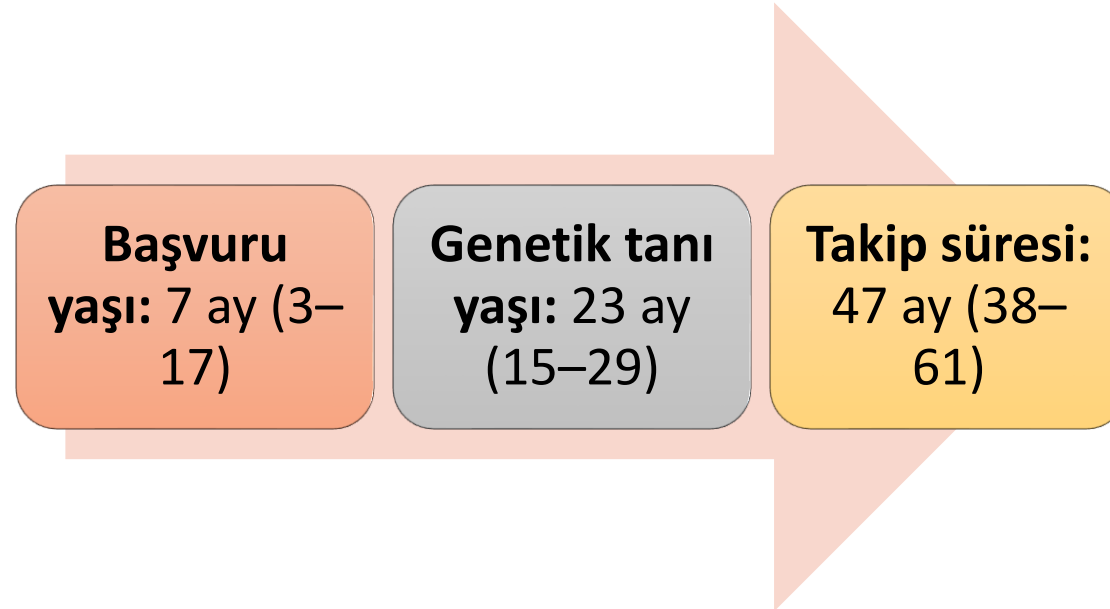
Moleküler fonksiyon

Biyolojik süreç

Hücresel bileşen

Sonuçlar

- Çalışma kohortu, genetik olarak doğrulanmış GEE tanılı 10 hastadan oluşmakta olup, bunların dördü erkek (%40) ve altısı kızdı (%60).
- Hastaların %50'sinin ailelerinde akraba evliliği öyküsü vardı.



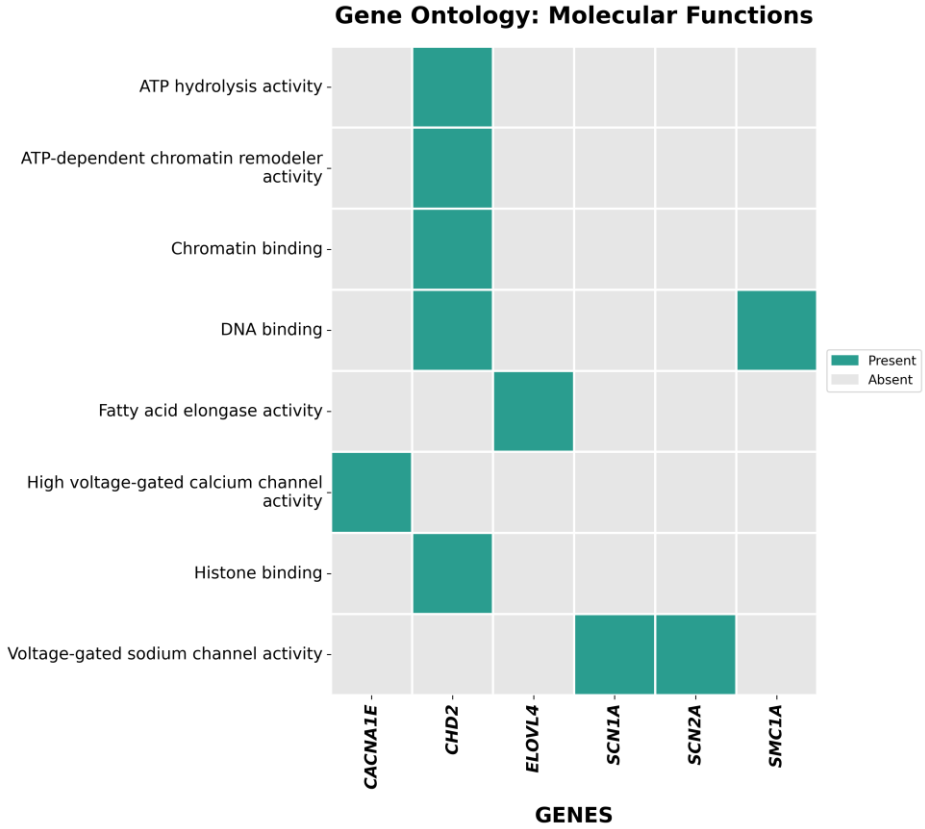
Tablo 1. Çalışma kohortunda moleküler genetik bulgular

Hasta No	Gen (Transkript No)	Varyant	Rs ID	Zigosite	Segregasyon	ACMG Sınıflaması (Kriterler)	ClinVar Sınıflaması (ID)	Referans
1	<i>SMC1A</i> (NM_006306.3)	c.3037C>T, p.Gln1013*	-	Heterozigot	NA	Olası patojenik (PVS1, PM2)	-	Yeni
2	<i>SCN2A</i> (NM_001040142.1)	c.4644G>A, p.Met1548Ile	-	Heterozigot	<i>De novo</i>	Olası patojenik (PS1_P, PM1, PM2, PM5, PP2, PP3)	-	Yeni
3	<i>ELOVL4</i> (NM_022726.4)	c.785T>C, p.Phe262Ser	-	Homozigot	NA	VUS (PM2, PP3_M)	-	Yeni
4	<i>SCN2A</i> (NM_001040142)	c.2558G>A, p.Arg853Gln	rs794727152	Heterozigot	NA	Patojenik (PS2, PS3, PM1, PM2, PM5, PP2, PP3_M)	Patojenik (ID: 194555)	PMID: 23935176
5	<i>PIGT</i> (NM_015937.6)	c.1519C>T, p.Arg507Trp	rs146484791	Homozigot	Her iki ebeveyn	Olası patojenik (PS3, PM2, PM5)	VUS (ID: 1003026)	PMID: 36970549
6	<i>CACNA1E</i> (NM_001205293.1)	c.6233C>T, p.Ser2078Leu	-	Heterozigot	Paternal	VUS (PM2_M, PP2)	-	Yeni
7	<i>CHD2</i> (NM_001271.4)	c.1378-3_1380delinsTTGGTCT, p.?	-	Heterozigot	<i>De novo</i>	Olası patojenik (PVS1, PM2)	-	Yeni
8	<i>SCN1A</i> (NM_006920.6)	c.473A>G, p.Glu158Gly	-	Heterozigot	NA	Patojenik (PM2, PM5, PP2, PP3_S)	-	PMID: 37955180
9	<i>ZNF526</i> (NM_133444.2)	c.114dup, p.Glu39*	-	Homozigot	NA	Olası patojenik (PVS1_S, PM2)	-	Yeni
10	<i>TRRAP</i> (NM_001244580.1)	c.10228G>C, p.Asp3410His	-	Heterozigot	Paternal	VUS (PM2_M, PP2_P)	-	Yeni

Tablo 2. Başlangıç nöbet özellikleri ve ACTH tedavisine erken ve orta dönem yanıtlar

Hasta No	Nöbet başlangıç yaşı (ay)	ACTH başlama yaşı (ay)	ACTH dozu (mg)	ACTH enjeksiyon sayısı	Baskın nöbet tipi	Elektroklinik sendrom	Başlangıç nöbet sıklığı (günlük)	Kısa dönem yanıt	Orta dönem yanıt	Başlangıç ASM'ler	Orta dönem ASM'ler
1	3	28	1	10	Jeneralize tonik	EIDEE	4	Kötü	Yanıt vermeyen	LEV, PB, VGB	PB, RUF, CBZ, VPA
2	0	5	0.5	7	İnfantil spazm	EIDEE	40	Çok iyi	Yanıt veren	LEV, VGB	LEV, TPM
3	4	48	1	10	Jeneralize miyoklonik + jeneralize tonik	LGS	10	Çok iyi	Yanıt vermeyen	CLZ, VPA, ZNS	CLZ, VPA, LEV
4	7	8	0.5	4	İnfantil spazm	IESS	20	Çok iyi	NA	VGB, TPM	CBZ, VPA, TPM
5	16	30	0.5	12	Atipik absans + jeneralize miyoklonik	EMAtS	50	İyi	Yanıt veren	VPA, RUF, CLZ	VPA
6	4	8	0.5	7	İnfantil spazm	IESS	5	Çok iyi	Yanıt veren	VGB, PB	VPA, PB
7	17	42	1	7	Jeneralize atonik	EMAtS	20	Kötü	Yanıt vermeyen	VPA, CBZ	CBZ, LEV, ESM
8	4	7	0.5	9	İnfantil spazm	IESS	20	İyi	Yanıt veren	VGB, VPA	VPA
9	4	15	1	7	Absans ile/olmadan göz kapağı miyoklonisi	EMAtS	>100	İyi	Yanıt veren	LEV, PB	LEV, CBZ
10	4	7	0.5	10	İnfantil spazm	IESS	30	Çok iyi	Yanıt veren	VGB	VGB

İlişkili varyantlar; SCN2A, ELOVL4, PIGT, CACNA1E, SCN1A, ZNF526, TRRAP



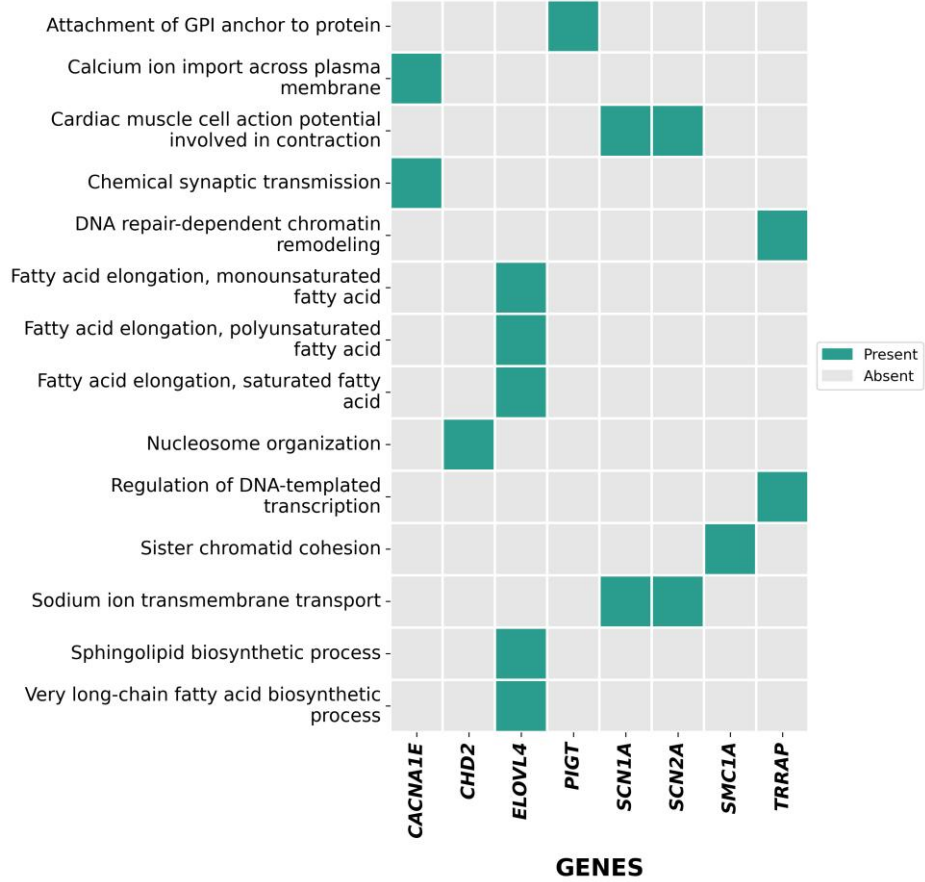
Moleküler fonksiyonu anote edilmiş sekiz genden;

- ✓ Üçü iyon kanal aktivitesinde (*CACNA1E*, *SCN1A*, *SCN2A*)
- ✓ İki DNA bağlanmasında (*CHD2* ve *SCM1A*)
- ✓ Biri ise lipid metabolik işlevlerinde (*ELOVL4*) fonksiyon göstermektedir

En yaygın moleküler fonksiyon **iyon kanal aktivitesi** olarak belirlendi

Şekil 1. Gene Ontology verilerinin ısı haritası ile gösterimi

Gene Ontology: Biological Processes



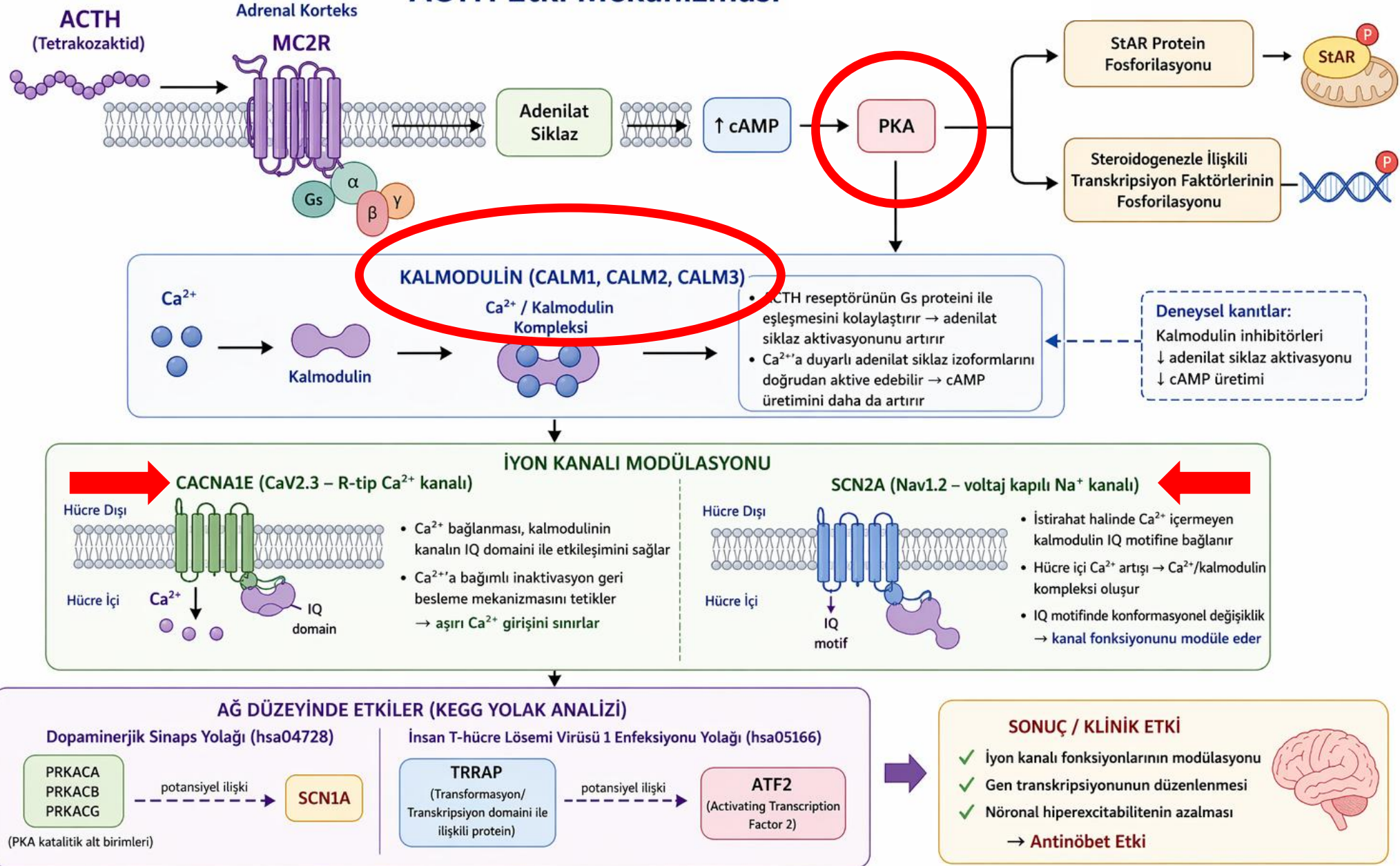
Biyolojik işlevlerine göre bu genler;

- ✓ İyon transportunda
- ✓ Kas kasılma süreçlerinde
- ✓ Lipid metabolizmasında
- ✓ Transkripsiyon, DNA tamiri, kardeş kromatid kohezyonu gibi işlevlerde yer almakta

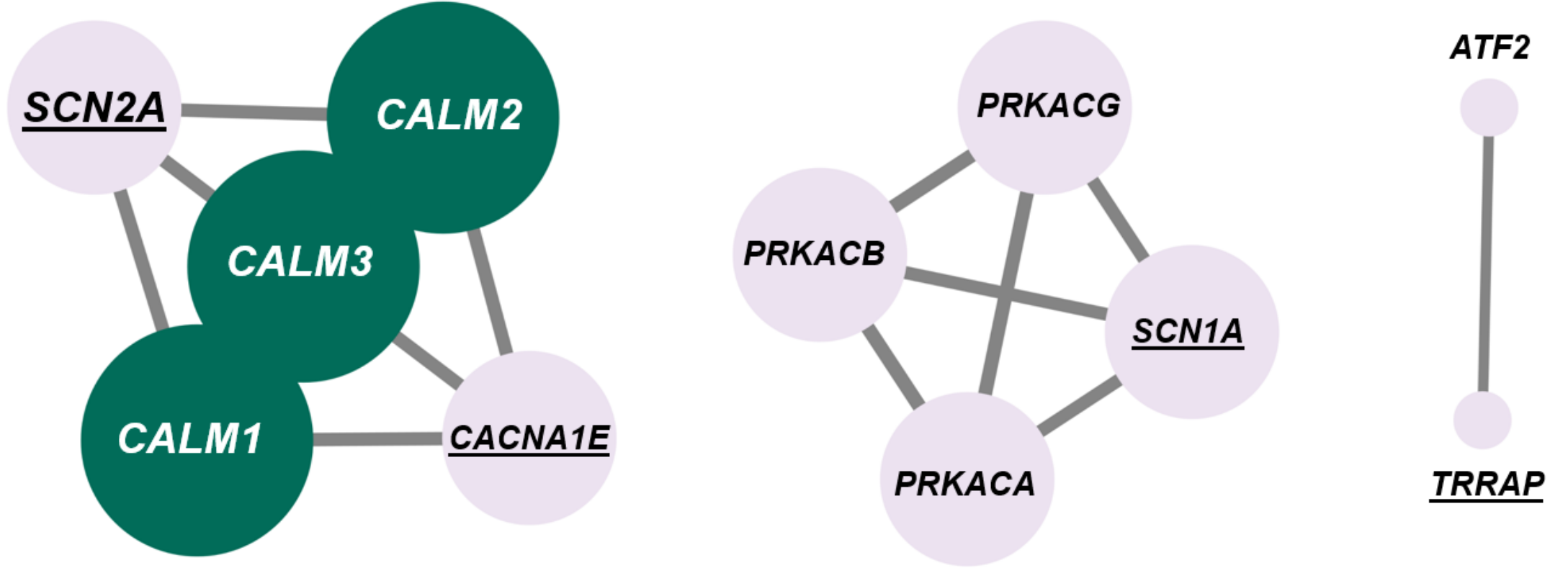
Biyolojik işlevlerde **iyon transportu** ve **hücre döngü işlevleri** öne çıkmakta

Şekil 1. Gene Ontology verilerinin ısı haritası ile gösterimi

ACTH Etki Mekanizması



Üç ayrı gen için araştırılan yolaklardaki genler ile etkileşim saptandı



Güven
Aralığı

SCN2A-CALM1 0,926
SCN2A-CALM2 0,926
SCN2A-CALM3 0,96

CACNA1E-CALM1 0,925
CACNA1E-CALM2 0,925
CACNA1E-CALM3 0,925

SCN1A-PRKACA 0,9
SCN1A-PRKACB 0,9
SCN1A-PRKACG 0,9

TRRAP-ATF2 0,72

Şekil 2. Çalışmaya dahil edilen genler ile tetrakozaktidin etki mekanizmasında yer aldığı düşünülen genler arasındaki protein–protein etkileşim ağı

Uzun dönem yanıt veren olguda varyant saptanan **PIGT** geni ile araştırılan yolaklardaki genler ile anlamlı ilişki saptanmadı

Tartışma

BİZİM ÇALIŞMAMIZ

- **Çoğunluk:** iyon kanal genleri
- **Diğerleri:**
 - Kromatin düzenlenmesi
 - Transkripsiyonel regülasyon
 - Protein homeostazi

LİTERATÜR BULGULARI



Protein biyosentezi & hücresel transport

→ ↑ **DEE riski**



İyon kanal genleri

→ daha hafif kognitif etki



Ancak:

Multivaryant analizde anlamlı değil¹.

IESS ÇALIŞMALARI



Anatomik yapısal gelişim ile ilgili genler



Hücre içi sinyal iletiminde görevli genler

1. Henry OJ, Ygberg S, Barbaro M, Lesko N, Karlsson L, Pena-Perez L, et al. Clinical whole genome sequencing in pediatric epilepsy: Genetic and phenotypic spectrum of 733 individuals. *Epilepsia*. 2025;66(8):2966-79
2. Innes EA, Han VX, Patel S, Farrar MA, Gill D, Mohammad SS, et al. Aetiopathogenesis of infantile epileptic spasms syndrome and mechanisms of action of adrenocorticotrophin hormone/corticosteroids in children: A scoping review. *Dev Med Child Neurol*. 2025;67(8):1004-25.



SCN1A / SCN2A

- **Tutarsız sonuçlar**
- IESS ve diğer DEE olgularında vaka bazlı veriler^{1,2}



PIGT / TRRAP

- Literatürde **veri yok**



CACNA1E

- Erken dönemde **anlamli yanıt**³
- (**Varyant:** c.2104G>T; p.Ala702Ser)



**Net bir
genotip–yanıt ilişkisi
gösterilememiştir.**

1. Zhang Y, Zou LP, Ding YX, He B, Yang G. Association of SCN1A gene polymorphisms with infantile spasms and adrenocorticotrophic hormone responsiveness. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(17):2500-6.
2. Su DJ, Lu JF, Lin LJ, Liang JS, Hung KL. SCN2A mutation in an infant presenting with migrating focal seizures and infantile spasm responsive to a ketogenic diet. Brain Dev. 2018;40(8):724-7.
3. Royer-Bertrand B, Jequier Gyax M, Cisarova K, Rosenfeld JA, Bassetti JA, Moldovan O, et al. De novo variants in CACNA1E found in patients with intellectual disability, developmental regression and social cognition deficit but no seizures. Mol Autism. 2021;12(1):69.

Sonuç

ACTH, MC2R üzerinden **cAMP–PKA yolunu** aktive ederken, **kalmodulin aracılığıyla kalsiyum ve sodyum kanalları** üzerinde düzenleyici etki göstermekte.

Bu **çok katmanlı etki**, nöronal eksitabilitenin azalmasına ve **antinöbet etkinliğe** katkı sağlamakta.

Bu **çok katmanlı etki**, nöronal eksitabilitenin azalmasına ve **antinöbet etkinliğe katkı** sağlamakta.

Klinik, genetik ve protein etkileşim düzeyindeki verilerin **birlikte değerlendirilmesi**, tedavi yanıtında özellikle iyon kanalları, kalsiyum sinyalizasyonu ve hücre içi düzenleyici mekanizmaların rol oynayabileceğini göstermektedir.

Tedavi yanıtında özellikle **iyon kanalları, kalsiyum sinyalizasyonu ve hücre içi düzenleyici mekanizmaların** rol oynayabileceğini göstermektedir.

Teşekkürler..

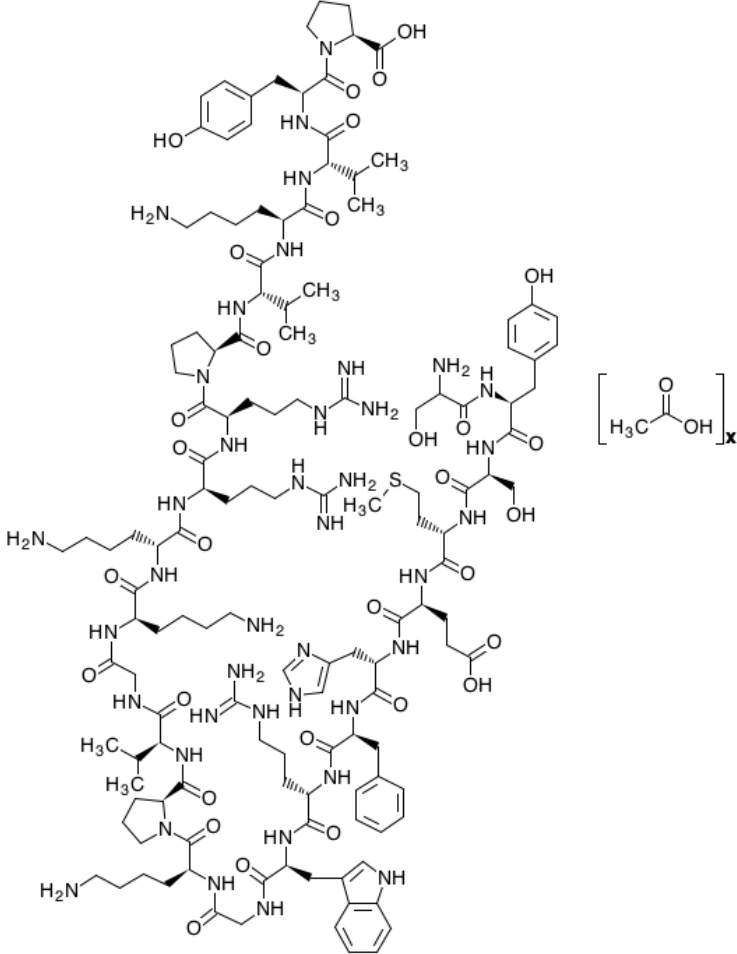
- **Tetrakozaktid (ACTH'nin ilk 24 aminoasidinden oluşur) → adrenal kortekste, hücre yüzeyindeki MC2 reseptörüne bağlanır^{1,2}.**
- **MC2R aktivasyonu → adenilat siklazı uyarır → cAMP'yi artırır**
- **cAMP → PKA yolağını aktive eder³**
- **PKA → steroidogeneizde görevli StAR proteinini ve ilgili transkripsiyon faktörlerini fosforile eder^{4,5}**
- **Ca²⁺/kalmodulin kompleksi adenilat siklaz aktivasyonunu artırır. Kalsiyuma duyarlı bazı adenilat siklaz izoformlarını doğrudan aktive ederek cAMP üretimini daha da artırabilir^{6,7}.**
- **ACTH etkisini MC2R–cAMP–PKA yolu üzerinden gösterir ve bu süreç kalsiyum–kalmodulin sistemi ile modüle edilir.**

- Activating transcription factor 2 (ATF2), bazal koşullarda otoinhibitör etkileşimler nedeniyle inaktif durumdadır.
- Hücrel stres durumunda stresle aktive olan protein kinazlar (SAPK'lar), ATF2'yi fosforile ederek otoinhibisyonu ortadan kaldırır ve transkripsiyonel aktivasyonunu sağlar.

- Kalmodulin, CALM1, CALM2 ve CALM3 genleri tarafından kodlanmaktadır. Çalışma kohortumuzda yapılan in silico analizler, kalmodulin ile CACNA1E ve SCN2A genleri arasında potansiyel etkileşimler olduğunu göstermiştir. CACNA1E geni, voltaj kapılı R-tipi kalsiyum kanalının (CaV2.3) $\alpha 1E$ alt birimini kodlamaktadır (37). Kalsiyum bağlanmasını takiben kalmodulin, bu kanalın IQ domaini ile etkileşime girerek hücreye aşırı kalsiyum girişini sınırlandıran kalsiyuma bağımlı bir inaktivasyon geri besleme mekanizmasını tetikler (38).
- SCN2A geni ise voltaj kapılı sodyum kanalı NaV1.2'nin α alt birimini kodlamaktadır (37). NaV1.2'nin IQ motifi, kalmodulin için bir bağlanma bölgesi olarak görev yapar. İstirahat koşullarında kalsiyumsuz kalmodulin bu bölgeye bağlanırken, hücre içi kalsiyum düzeylerinin artmasıyla Ca^{2+} /kalmodulin kompleksinin oluşumu bu bölgede konformasyonel bir değişikliğe yol açarak kanal fonksiyonunu modüle eder (39).
- Buna ek olarak, cAMP-bağımlı protein kinazın katalitik alt birimlerini kodlayan PRKACA, PRKACB ve PRKACG genlerinin, KEGG yolak analizine göre dopaminerjik sinaps yolunda (hsa04728) SCN1A ile potansiyel olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (37, 40). Bu yolaklarda etkileşim gösterdiği düşünülen bir diğer gen olan TRRAP, transformasyon/transkripsiyon alanı ile ilişkili bir proteini kodlamaktadır (37). KEGG analizi ayrıca TRRAP ile ATF2 arasında insan T-hücre lösemi virüsü 1 enfeksiyonu yolunda (hsa05166) potansiyel bir etkileşim olabileceğini göstermiştir (40).

- STRING puanı, mevcut tüm kanıtlar göz önüne alındığında, bir protein-protein ilişkisinin (işlevsel veya fiziksel) var olma olasılığının ne kadar yüksek olduğunu gösterir.
- Puanlar STRING arayüzünde 0,150 ile 0,999 arasında değişir. 1,0'a yakın bir puan, ilişkinin gerçek olma olasılığının daha yüksek olduğunu gösterir. Puan, bilinen biyolojik yollar ve komplekslere karşı kıyaslama yapılarak, ilişkinin var olma olasılığını yaklaşık olarak yansıtacak şekilde kalibre edilmiştir [1]. Nihai puan, birden fazla bağımsız kanıt kaynağının olasılıksal olarak birleştirilmesiyle hesaplanır.
- Önemli olarak, STRING puanı etkileşim gücünü, bağlanma afinitesini veya biyolojik etkinin büyüklüğünü ölçmez. Bunun yerine, mevcut verilerin biyolojik bir ilişkinin varlığını ne kadar güçlü bir şekilde desteklediğini yansıtır. Bu nedenle, yüksek bir STRING puanı, etkileşimin biyokimyasal düzeyde güçlü veya kararlı olduğu anlamına gelmez.

- Yedi kanalın tamamı fonksiyonel ağa katkıda bulunur. Kanalların yalnızca bir alt kümesi - metin madenciliği, deneyler ve derlenmiş veri tabanları - fiziksel etkileşimleri destekleyen kanıt sağlayabilir.
- Her kanıt kanalı aynı referans veri kümelerine göre karşılaştırılır:
- **İşlevsel ilişkiler için KEGG yolları**
- **Fiziksel etkileşimler için Complex Portal**
- Kanallar aynı referans veri kümelerine göre karşılaştırıldığı için, belirli bir puan değeri, kanıt kaynağına bakılmaksızın benzer bir güven düzeyini temsil etmeyi amaçlar. Her kanıt kanalının kendi önyargıları ve hata sınıfları vardır ve bazı sinyaller (örneğin eş zamanlı metin madenciliği) genellikle daha dolaylı işlevsel ilişkileri yakalar. Bununla birlikte, birden fazla büyük ölçüde bağımsız kanaldan gelen kanıtların birleştirilmesi, ağın genel tahmin gücünü artırır. Bu nedenle, çoğu analiz için, açık bir metodolojik neden olmadıkça kanıt kanallarının devre dışı bırakılması önerilmez.
- STRING'deki yedi kanıt kanalı şunlardır:
- **metin madenciliği**
- **deneyler**
- **derlenmiş veritabanları**
- **eş ifade**
- **filogenetik profiller (genomlar arası eş zamanlılık)**
- **gen komşuluğu**
- **gen füzyonu**
- Deneysel kanal, BioGRID, IntAct ve MINT gibi büyük etkileşim veritabanlarında bildirilen protein-protein etkileşimlerini entegre eder.
- Her etkileşim için STRING, ilgili deneysel kanıtları ayırıştırır ve deneysel yöntemin işlevsel bir ilişkiye ek olarak fiziksel bir etkileşimi de destekleyip desteklemediğini belirler.
- Veritabanı kanalı, KEGG, Reactome ve BioCyc dahil olmak üzere derlenmiş yol ve kompleks veritabanlarından elde edilen protein ilişkilerini yakalar.

Entry	D02105 Drug
Name	Tetracosactide acetate (JAN); Cortrosyn (TN)
Formula	C136H210N40O31S. (C2H4O2)x
Structure	 D02105 Mol file KCF file DB search
Simcomp	Neighbor
Class	Hormonal agent DG01629 Adrenocorticotrophic hormone (ACTH)
Remark	Therapeutic category: 2411 ATC code: H01AA02 Chemical structure group: DG00493 Product (DG00493): D00284<US> D02105<JP>
ESCI	Disruption of the function of the hypothalamic-pituitary axis

- Çalışmamızda, tetrakosactid için KEGG drug veritabanında, hedef yolaklar olan nöroaktif..., aldosteron.., kortizol.. Yolaklarında işlev gören genler belirlendi.
- Bu genler (476 gen) ile çalışma grubunda saptanan 9 gen için PPI yapıldı.
- Yolaklarda görevli gen sayısının fazla olması sebebiyle, daha güvenilir ilişkilerin belirlenebilmesi için yalnızca deneysel kanıtlar ve veritabanları kullanıldı.