

# Generalizált epilepszia háttérében azonosított ioncsatorna-génmutáció ritka formája

Till Ágnes dr.<sup>1</sup> ■ Szalai Renáta dr.<sup>1, 2</sup>  
 Hegyi Márta dr.<sup>3</sup> ■ Kövesdi Erzsébet dr.<sup>1, 2</sup> ■ Büki Gergely<sup>1</sup>  
 Hadzsiev Kinga dr.<sup>1, 2</sup> ■ Melegh Béla dr.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Központ, Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

<sup>3</sup>Magyar Református Egyház Bethesda Gyermekkórháza, Neurológia Osztály, Budapest

A molekuláris genetikai technológiák fejlődése következtében egyre több, korábban idiopátiásnak tartott betegség háttérében ismerjük meg a genetikai eltérést. A generalizált epilepsziában szenvedő, a betegség lefolyása során epilepsziászindrómát váltó, jó intellektusú, kiterjedt hipopigmentált folttal rendelkező fiúgyermek célzott genetikai vizsgálata neurocutan szindróma irányába nem hozott eredményt. Teljesexom-szekvenálás során egy kálium-klorid-kotranszporter génjének heterozigóta misszensz mutációja igazolódott, ami a fenotípussal összevetve, az irodalomban az idiopátiás generalizált epilepszia 14-es típusaként ismert epilepsziászindróma diagnózisát támasztja alá. *Orv Hetil.* 2019; 160(21): 835–838.

**Kulcsszavak:** idiopátiás generalizált epilepszia, *SLC12A5*, teljesexom-szekvenálás, *TSC1*, *TSC2*

## A rare form of ion channel gene mutation identified as underlying cause of generalized epilepsy

The advances in molecular genetic methods has lead to the discovery of the genetic alterations that underlie the etiology of most diseases previously held to be idiopathic. Targeted genetic examination of a pediatric male patient showing a normal intellect, an extended area of skin hypopigmentation, and suffering from generalized epilepsy displaying a switch in epilepsy syndrome during the course of the disease towards a neurocutaneous syndrome was unsuccessful. Whole-exome sequencing identified a heterozygous missense mutation in a potassium chloride cotransporter gene, which together with the phenotype underscores the diagnosis of an epilepsy syndrome known in the literature as idiopathic generalized epilepsy type 14.

**Keywords:** idiopathic generalised epilepsy, *SLC12A5*, whole-exome sequencing, *TSC1*, *TSC2*

Till Á, Szalai R, Hegyi M, Kövesdi E, Büki G, Hadzsiev K, Melegh B. [A rare form of ion channel gene mutation identified as underlying cause of generalized epilepsy]. *Orv Hetil.* 2019; 160(21): 835–838.

(Beérkezett: 2019. január 3.; elfogadva. 2019. január 21.)

### Rövidítések

AD = autoszomális domináns; AR = autoszomális recesszív; DNS = dezoxiribonukleinsav; EDTA = (ethylenediaminetetraacetic acid) etilén-diamin-tetraecetsav; EEG = elektroencefalográfia; EIMFS = (epilepsy of infancy with migrating focal seizures) korai migráló fokális epilepszia; GABA = (gamma-aminobutyric acid) gamma-aminovajsav; IGE = idiopátiás generalizált epilepszia; MLPA = (multiplex ligation-de-

pendent probe amplification) multiplex ligatíofüggő próbaamplifikáció; MR = (magnetic resonance) mágneses rezonancia; PCR = polimeráz-lánreakció; PET/CT = (positron-emission tomography/computed tomography) pozitron-emissziós tomográfia/számítógépes tomográfia; VUS = (variant of uncertain significance) bizonytalan jelentőségű változat; WES = (whole-exome sequencing) teljesexom-szekvenálás

A molekuláris genetikai technológiák robbanásszerű fejlődése forradalmasította a medicina szinte valamennyi területét. Az adott betegpopulációkban elvégzett teljes-exom-, illetve teljesgenom-szekvenálás eredménye óriási ismeretanyaghoz juttatja a kutatókat és a klinikusokat az adott betegség genetikai okait és hajlamosító tényezőit illetően. Az epilepsziák legújabb terminológiája és klaszifikációja már figyelembe veszi az új molekuláris genetikai ismereteket is [1]. Az „idiopátiás” terminológia kezd kiszorulni, hiszen egyre több epilepsziászindróma genetikai hátterét ismerjük, ezért a korábban idiopátiás generalizált epilepszia szindróma helyett a genetikus generalizált epilepszia a helyes terminológia. Az ismert, epilepsziát okozó gének fenotípusos heterogenitást, az epilepsziászindrómák nagy része pedig genetikai heterogenitást mutat. A pontos genetikai diagnózis elengedhetetlen feltétele az érintett család genetikai tanácsadásának, a magzati vizsgálat felajánlásával pedig segítheti a pozitív családtervezést, és sok esetben terápiás konzekvenciával is jár.

### Esetismertetés

A negatív családi anamnézisű, jelenleg 14 éves fiúbeteg a mater I/1. graviditásából, a 41. gesztációs hétre, 2900 g születési súllyal, jó általános állapotban született. Apgar-érték: 10–10. A magzati ultrahangvizsgálata során ábrázolódo plexus chorioideus ciszta miatt a 2. trimeszterben amniocentesis történt, a kromoszómavizsgálat normál férfi kariotípust mutatott. Cardiorespiratoricus adaptációja rendben zajlott, korai pszichomotoros fejlődése jó ütemű volt. Két és fél éves korában indult az epilepsziája astaticus myoclonus szindróma formájában, majd kiskorúságban szindrómaváltás következett be, absence rohamai jelentkeztek. Kezdetben csak hármas antiepileptikumkombináció mellett volt rohammentes, jelenleg monoterápiaként lamotrigint szed, és 5 éve nem volt roham. A gyógyszer dózisének csökkentése viszont görcsöt provokált, így az antiepileptikumot leépíteni nem lehetett. Alvásmegvonásos EEG-vizsgálata során generalizált interictalis epileptiform jelek igazolódtak. Epileptogén fókuszként a koponya-MR-vizsgálat és a PET/CT-vizsgálat alapján a jobb frontális érképletek körüli szürkeállomány szerepe merült fel. A megszületéstől észlelt, a bal testfélén elhelyezkedő, szegmentális jellegű, Blaschkó-vonalat követő, a középvonalat megtartó, kiterjedt hipopigmentált folt, a diszkrét koponya-MR-eltérés és az epilepszia együttes előfordulása felvetette a neurocutan szindróma lehetőségét. Intézetünkben 9 évesen vizsgáltuk először, ekkor belszervi és neurológiai státusából a hipopigmentált folton kívül kiemelendő nem volt, lényeges dysmorphiát nem észleltünk (*1. ábra*). Bár a diagnosztikus kritériumrendszer alapján a sclerosis tuberosa klinikai diagnózisát felállítani akkor nem lehetett, genetikai vizsgálatainkat ez irányba indítottuk. Betegünk jelenleg 8. osztályos, kognitív funkciói kiválóak, kitűnő tanuló.



1. ábra | A beteg bőrtünete

### Módszer

A Pécsi Tudományegyetem Orvosi Genetikai Intézetének genetikai tanácsadójában részletes fenotípuselemzést végeztünk, betegünket a humángenetikai törvénynek megfelelően genetikai tanácsadásban részesítettük. A beteg törvényes képviselője írásos beleegyezését adta a genetikai vizsgálatok elvégzéséhez. A DNS-minta tárolása, a vizsgált személy eredményeinek tudományos közleményben történő felhasználása az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának jóváhagyásával történt; a helsinki nyilatkozat (1971) irányelveit követtük.

A molekuláris genetikai vizsgálatokhoz EDTA-val avadásgátolt perifériás leukocytákból E.Z.N.A.® Blood DNA Maxiprep Kit-tel (VWR International Kft., Debrecen) izolált genomiális DNS-mintát használtunk.

A *TSC1* és *TSC2* gének valamennyi exonjának amplifikálásához polimeráz-lánreakciót (PCR) végeztünk az általunk tervezett exonspecifikus primerpárok használatával. A PCR-t követően a termékeket bidirekcionális

Sanger-szekvenálással analizáltuk ABI 3500 Genetic Analyzer szekvenáló (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével, BigDye terminátorreagens (Thermo Fisher Scientific) felhasználásával. A szülők hordozósági vizsgálatát szintén ezzel a módszerrel, PCR-technikával és Sanger-szekvenálással végeztük.

A nagyobb génátrendeződések vizsgálatát multiplex ligatíofüggő próbaamplifikációs (MLPA-) technikával végeztük, amely exonspecifikus ligálási lépésből, fluoreszcensen jelölt univerzális primerekkel történő PCR-amplifikációból és a keletkezett termékek fragmentanalíziséből áll. A módszer egy vagy több exon deletiójának vagy duplikációjának detektálása mellett akár a teljes gén kópiaszám-változásának kimutatására alkalmas. Az MLPA-analízis a kereskedelembe kapható kittel történt, a gyártó cég leírása alapján (MRC Holland, Amszterdam, Hollandia).

## Eredmények

Mivel a *TSC1* és *TSC2* gének Sanger-szekvenálása és MLPA-analízise során eltérés nem volt kimutatható, a beteg DNS-mintáját kollaboráció keretében külföldi genetikai laboratóriumba küldtük teljesexom-szekvenálás (WES) elvégzése céljából. A WES során az *SLC12A5*-génben egy heterozigóta c.1417G>A misszensz eltérést detektáltak, mely egy valin-izoleucin cserét eredményez a fehérje 473-as aminosavpozíciójában (p.Val473Ile). A detektált eltérés a szakirodalomban eddig ismeretlen, különböző perdikciós szoftverekkel vizsgálva eltérő megítélésű, a külföldi kollaborációs laboratórium beszámolójában VUS-ként (variant of uncertain significance) klasszifikált. A fenotípussal összevetve, a szakirodalomban az idiopátiás generalizált epilepszia (IGE) 14-es típusaként ismert epilepsziászindróma diagnózisát tá-

masztja alá. A szülők hordozósági vizsgálata során az édesanya a vizsgált mutációra nézve normál genotípusúnak bizonyult, míg a tünetmentes édesapánál is kimutattuk a gyermeknél észlelt heterozigóta c.1417G>A misszensz mutációt az *SLC12A5*-génben.

## Megbeszélés

Az *SLC12A5*-gén terméke egy, a központi idegrendszerben expresszáldó kálium-klorid-kotranszporter (KCC2) fehérje, a kation-klorid-kotranszporter géncsalád tagja. A KCC2 normál működése alacsony intracelluláris Cl<sup>-</sup>-koncentrációt eredményez az érett neuronokban, ami elengedhetetlen a megfelelő szinaptikus gátlás kialakulásához [2]. Régióta feltételezik, hogy az *SLC12A5*-gén defektusa, így a KCC2 fehérje expressziójában és működésében bekövetkező változások felelősek az amúgy precízen szabályozott, gyors poszt-szinaptikus GABAerg-gátlás elégtelenségéért és a csökkent hiperpolarizációért, melyet különböző neurológiai és pszichiátriai betegségek (például skizofrénia) kialakulásával hoztak összefüggésbe [3].

A szakirodalomban azonban eddig csak kevés esetben számoltak be az *SLC12A5*-gén mutációi következtében létrejövő monogénes betegségekről. Az utóbbi években az *SLC12A5*-génben azonosított variánsokat két igen eltérő fenotípussal járó epilepsziászindróma kialakulásával hozzák összefüggésbe: mindkét allél mutációja esetén egy súlyos lefolyású korai infantilis epilepsziás encephalopathia, míg az egyik allél mutációja esetén egy jóval enyhébb lefolyású idiopátiás generalizált epilepszia kialakulása várható.

*Kahle és mtsai* idiopátiás generalizált epilepsziás betegeket vizsgálva két különböző heterozigóta, aminosavcserével járó variánst (R952H és R1049) azonosítottak az *SLC12A5*-génben kanadai francia populációban.

1. táblázat | Az irodalomban eddig közölt *SLC12A5*-mutációk típusai és a betegek fenotípusa

Gén	Nukleotidszintű eltérés	Proteinszintű eltérés	Öröklődés	Fenotípus	Referencia
<i>SLC12A5</i>	c.1417G>A	p.V473I	AD	IGE-14	A jelen vizsgálat
	c.2855G>A	p.R952H	AD	IGE-14	Kahle, 2014
	c.3145C>T	p.R1049C	AD		
	c.1277T>C	p.L426P	AR, compound heterozigóta	EIMFS	Stöddberg, 2015
	c.1652G>A	p.G551D			
	c.932T>A	p.L311H	AR, homozigóta		
	c.279+1G>C	p.E50_Q93del	AR, compound heterozigóta	EIMFS	Saito, 2016
	c.572C>T	p.A191V			
	c.967T>C	p.S323P	AR, compound heterozigóta		
	c.1243A>G	p.M415V			
	c.953G>C	p.W318S	AR, compound heterozigóta	EIMFS	Saito, 2017
	c.2242_2244del	p.S748del			
	c.1196C>T	p.S399L	AR, compound heterozigóta		
	c.2639G>T	p.R880L			

AD = autoszomális domináns; AR = autoszomális recesszív; EIMFS = korai migráló fokális epilepszia; IGE-14 = az idiopátiás generalizált epilepszia 14-es típusa

*In vitro* funkcionális vizsgálatokkal kimutatták a kloridkiáramlási kapacitás csökkenését a mutációt hordozó sejteken. A variánsok előfordulását tünetmentes szülőkben az inkomplett penetranciával magyarázták [4].

Stödberg és mtsai WES-vizsgálattal két különböző család négy érintettjében compound heterozigóta, illetve homozigóta mutációt mutattak ki az *SLC12A5*-génben klinikailag korai migráló fokális epilepsziás betegekben (EIMFS) [5]. A szerzők munkájukban *in vitro* funkcionális vizsgálatokkal kimutatták, hogy a mutációk csökkentik a gén expresszióját, kórossá válik a poszttranszlációs modifikáció, és a transzportfunkció csökkenése a normális szinaptikus gátlás csökkenéséhez, azaz az idegsejtek fokozott excitabilitásához vezet. Később Saito és mtsai négy EIMFS-fenotípusú betegben három különböző, az *SLC12A5*-gént érintő compound heterozigóta mutációt, majd Saito és mtsai további egy compound heterozigóta mutációt közöltek [6, 7]. Az irodalomban eddig közölt *SLC12A5*-gén-mutációkat az 1. táblázat összesíti.

A betegünk tünetmentes édesapjánál is kimutatható mutációt, Kahle és mtsai megfigyeléséhez hasonlóan, az inkomplett penetranciával magyarázzuk.

## Következtetés

Esetünk jól példázza azt, hogy a 'genetikai epilepszia' terminológia nem egyenlő az 'öröklődő epilepszia' kifejezéssel. A génmutáció megléte szükséges feltétele a betegség kialakulásának, de a pontos fenotípus, kórlefolyás, prognózis ez alapján nem prediktálható.

Bemutatott esetünkben a bőrtünet és az epilepszia együttes előfordulása a neurocutan szindróma irányába mutatott, a sclerosis tuberosa diagnózisát azonban genetikai vizsgálattal megerősíteni nem tudtuk. A pontos diagnózis felállítása WES-vizsgálat elvégzésével vált lehetővé. Az eddig az irodalomban nem ismert eltérés a fenotípussal összevetve megerősítette a genetikus generalizált epilepszia diagnózisát. Más szerzőkhöz hasonlóan úgy gondoljuk, hogy az új generációs szekvenálási technikáknak, azokon belül is a WES-vizsgálatnak létjogosultsága van az epilepsziás betegek diagnosztikus algoritmusában [8].

**Anyagi támogatás:** Ez a munka az OTKA K119540, GINOP-2.3.2-15-2016-00039, valamint az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 támogatásával jött létre.

**Szerzői munkamegosztás:** T. Á. a klinikai részt és a megbeszélést, Sz. R. és B. G. a módszerek és az eredmények részt írta. K. E. végezte a molekuláris genetikai vizsgálatokat és kiértékelte az eredményeket. H. K. és H. M. a beteget vizsgálták. M. B. véleményezte és javította a kéziratot. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta, jóváhagyta.

**Érdekltségek:** A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

## Irodalom

- [1] Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 2017; 58: 512–521.
- [2] Hübner CA, Stein V, Hermans-Borgmeyer I, et al. Disruption of *KCC2* reveals an essential role of K-Cl cotransport already in early synaptic inhibition. *Neuron* 2001; 30: 515–524.
- [3] Tao R, Li C, Newburn EN, et al. Transcript-specific associations of *SLC12A5* (*KCC2*) in human prefrontal cortex with development, schizophrenia, and affective disorders. *J Neurosci*. 2012; 32: 5216–5222.
- [4] Kahle KT, Merner ND, Friedel P, et al. Genetically encoded impairment of neuronal *KCC2* cotransporter function in human idiopathic generalized epilepsy. *EMBO Rep*. 2014; 15: 766–774.
- [5] Stödberg T, McTague A, Riuz AJ, et al. Mutations in *SLC12A5* in epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Nat Commun*. 2015; 6: 8038.
- [6] Saito H, Watanabe M, Akita T, et al. Impaired neuronal *KCC2* function by biallelic *SLC12A5* mutations in migrating focal seizures and severe developmental delay. *Sci Rep*. 2016; 6: 30072.
- [7] Saito T, Ishii A, Sugai K, et al. A *de novo* missense mutation in *SLC12A5* found in a compound heterozygote patient with epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Clin Genet*. 2017; 92: 654–658.
- [8] Dunn P, Albury CL, Maksemous N, et al. Next generation sequencing methods for diagnosis of epilepsy syndromes. *Front Genet*. 2018; 9: 20.

(Till Ágnes dr.,  
Pécs, József A. u. 7., 7623  
e-mail: till.agnes@pte.hu)