

Genetické testování u idiopatických epileptických syndromů a epileptických encefalopatií – díl I.

MUDr. Hana Krijtová, doc. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

Centrum pro epilepsie Motol, Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Molekulárně genetické diagnostické technologie se rychle vyvíjejí, a tím se souběžně zvětšuje jejich výtěžnost a snižuje ekonomická náročnost. Roste i povědomí lékařů a obecné populace o možných genetických příčinách epilepsie a stoupají požadavky na genetické vyšetření pacientů s epilepsií. Význam provádění genetických testů v klinické praxi je však i přes pokroky v identifikaci genů ovlivňujících riziko vzniku různých epilepsií stále ve většině případů sporný. Při zvažování genetického testování je nutné znát nejen typ dědičnosti různých poruch, ale vědět i o časté genetické či fenotypové heterogenitě u poruch postihujících CNS a o klinické užitečnosti jednotlivých testů. Tento článek poskytuje aktuální přehled idiopatických epileptických syndromů a epileptických encefalopatií s identifikovanou genetickou příčinou a recentní pohled komise ILAE na výtěžnost genetických testů.

Klíčová slova: idiopatické epileptické syndromy, genetické testování.

Genetic testing in idiopathic epileptic syndromes and epileptic encephalopathies – part I

Molecular genetic diagnostic methods have recently very quickly advanced, their yield has simultaneously increased and the cost decreased. Both physicians and common population have become more aware of possible genetic reasons for epilepsy and demands for genetic testing of patients with epilepsy have increased too. But despite the progress in identification of genes contributing to different epileptic syndromes the utility of genetic tests in clinical epileptology is often controversial. In genetic counselling physicians should be familiar not only with the mode of inheritance of disorders, but must be also aware of frequent genetic and phenotype heterogeneity and clinical utility of the tests. The overview of idiopathic epileptic syndromes and epileptic encephalopathies with identified genetic aetiology, possibilities of genetic testing and current opinion on the clinical utility of genetic testing in specific syndromes is provided.

Key words: idiopathic epileptic syndromes, epileptic encephalopathies, genetic testing.

Neurol. praxi 2012; 13(4): 216–218

Seznam zkratk

AD – autozomálně dominantní
ADNFLE – autozomálně dominantní epilepsie frontálního laloku s nočními záchvaty
ADPEAF – autozomálně dominantní fokální epilepsie se sluchovými příznaky
BECTS – benigní epilepsie s centrotemporálními hroty
BFNIS – benigní familiární neonatální a infantilní záchvaty
BFNS – benigní familiární neonatální záchvaty
CAE – dětská epilepsie s absencemi
CNV – copy number variations (variace počtu kopií)
EFMR – epilepsie a mentální retardace vázaná na ženy
FZ – febrilní záchvaty
GEFS+ – genetická epilepsie s febrilními záchvaty plus
Geny: KCNQ2, KCNQ3, CHRNA4, CHRNA2, CHRN2, SCN1B, SCN1A, SCN2A, GABRG2, GABRA1, LGI1, PCDH19, STXBPI, ARX, STK9/CDKL5 viz tabulka
IGE – idiopatické generalizované epilepsie
ILAE – International League Against Epilepsy
JAE – juvenilní epilepsie s absencemi
JME – juvenilní myoklonická epilepsie

Úvod

Molekulárně genetické diagnostické technologie se rychle vyvíjejí, a tím se souběžně zvyšuje jejich výtěžnost a snižuje ekonomická náročnost. Roste i povědomí lékařů a běžné populace o možných genetických příčinách epilepsie a stoupají požadavky na genetické vyšetření pacientů s epilepsií.

Význam identifikace genů ovlivňujících riziko vzniku epilepsie spočívá především v obohacení teoretických znalostí o patofyziologických a vývojových důsledcích různých mutací, což může vést k objasnění základních principů vzniku záchvatů. Tyto objevy umožňují v některých případech cílený výběr či vývoj léků ovlivňujících specifické děje během vzniku a šíření záchvatů (iktogeneze) a v budoucnosti snad i průběh epileptogeneze.

V klinické praxi se pak tyto objevy uplatní při genetickém testování, které může potvrdit určitou diagnózu (**diagnostické testování**), nebo může určit riziko onemocnění epilepsií pro členy rodiny (**prediktivní testování**). Zvláštním typem prediktivního testování je **prenatální testování** užívané k potvrzení či vyloučení genetické poruchy u plodu. **Testování na přenašeče** slouží k identifikaci asymptomatických členů

rodiny, kteří přenášejí mutaci genu pro autozomálně recesivní či X vázanou poruchu.

Navzdory velkému pokroku v genetickém výzkumu identifikovali vědci zatím jen malou část genetických příčin většiny onemocnění a genetické testy nemusejí poskytovat validní nebo klinicky užitečné výsledky pro testované jedince. Genetické testování často není nijak přímocáré a vyžaduje komplexní přístup, protože v diferenciální diagnostice je nutno brát v úvahu větší množství genů a mutace charakterizující určitou postiženou rodinu jsou často unikátní. Výzkum navíc pokračuje tak bouřlivě, že doporučení konkrétního postupu může být velmi rychle zastaralé a překonané dalšími objevy. Obecně je vhodné se při plánování testování řídit posouzením jeho klinické užitečnosti.

Kritéria pro hodnocení klinické užitečnosti genetického testování

Na základě modelu vypracovaného Haddowem a Palomakim v 2004 (Haddow a Palomaki, 2004) byla genetickou komisí ILAE v roce 2010 zhodnocena užitečnost aktuálně dostupných testů pro vyšetření pacientů s epilepsií – tabulka 1 (Ottman et al., 2010).

Tabulka 1. Monogenně dědičné epileptické syndromy, u nichž byly identifikovány kauzální geny. Genetické testování u těchto syndromů je hodnoceno jako: užitečné ++, někdy užitečné +, nepřínosné – (volně podle Ottman et al., 2010)

Syndrom	Gen	Chromozom	Produkt genu	Užitečnost testování
BFNS	KCNQ2	20q13.3	Kv7.2 (K ⁺ kanál)	+
	KCNQ3	8q24	Kv7.3 (K ⁺ kanál)	+
BFNIS	SCN2A	2q23-q24.3	Nav1.2 (Na ⁺ kanál – α 2 podjednotka)	+
Ohtaharův syndrom	STXBP1	9q34.1	Syntaxin binding protein 13	+
	ARX	Xp22.13	Aristaless-related homeobox protein	+
Infantilní spazmy s časným začátkem	STK9/CDKL5	Xp22	Cyclin-dependent kinase-like 5	+
X-vázané infantilní spazmy	ARX	Xp22.13	Aristaless-related homeobox protein	+
Syndrom Dravetové	SCN1A	2q24	Nav1.1 (Na ⁺ kanál – α 1 podjednotka)	++
GEFS+	SCN1A	2q24	Nav1.1 (Na ⁺ kanál – α 1 podjednotka)	–
	SCN1B	19q13.1	β 1 (Na ⁺ kanál – β 1 podjednotka)	–
	GABRG2	5q34	GABAA receptor – γ 2 podjednotka	–
EFMR	PCDH19	Xq22	protokadherin	++
CAE s FZ	GABRG2	5q34	GABAA receptor – γ 2 podjednotka	–
Absence s časným začátkem	SLC2A1	1p35-p31.1	GLUT1 (transportér glukózy typ 1)	++
JME	GABRA1	5q34-q35	GABAA receptor – α 1 podjednotka	–
	EFHC1	6p12-p11	EF hand motíř protein	–
ADNFLE	CHRNA4	20q13.2-q13.3	nAChR – α 4 podjednotka	+
	CHRN2	1q21	nAChR – β 2 podjednotka	+
	CHRNA2	8p21	nAChR – α 2 podjednotka	+
ADPEAF	LGI1	10q24	leucin rich glioma inactivated protein 1	+

Tento model je označován jako ACCE podle čtyř základních složek hodnocení – analytické validity, klinické validity, klinické užitečnosti a etických, zákonných a sociálních důsledků, které mohou vzniknout při použití testů.

Analytická validita se odvíjí od laboratorních charakteristik testů – jak přesně a spolehlivě stanovují zkoumaný genotyp. Je závislá na molekulární podstatě detekce a na typu mutace – některé testy jsou zaměřeny pouze na část genu, některé nemohou odhalit například drobné intragenní delece či duplikace. V zásadě v současné době neexistuje univerzální test, který by byl schopen odhalit všechny typy změn genetického materiálu.

Klinická validita hodnotí, jak spolehlivě a přesně test odpovídá na klinickou otázku, zda jedinec je postižen určitou poruchou nebo rizikem jejího rozvoje. Čím přesněji je syndrom definován, čím jednoznačnější je vztah mezi genotypem a fenotypem (např. monogenní choroba s jedním genem, jednoznačnou penetrancí a expresivitou), tím je klinická validita vyšší.

Klinická užitečnost vlastní posuzuje pravděpodobnost, že výsledek testu významnělepší stav pacienta – v současné době se jedná o vzácné situace, např. léčba ketogenní dietou u syndromu deficiencie GLUT1, nebo výběr vhodných antiepileptik u syndromu Dravetové. Odvíjí se především od závažnosti uvažované poruchy a reprodukčních plánů rodiny. Prospěch

pro pacienta může zahrnovat i jiné aspekty, např. vyvarování se náročných vyšetření při pátrání po příčině onemocnění nebo odhad prognózy.

Etické, zákonné a sociální důsledky – např. předsudky okolí či diskriminace komerčními pojišťovnami, které mohou v souvislosti s použitím testu vzniknout.

Genetika idiopatických epileptických syndromů a epileptických encefalopatií

Do skupiny idiopatických epileptických syndromů jsou řazeny ty, u nichž je prokázána nebo se předpokládá genetická příčina bez strukturálních změn CNS. Počet odhalených kauzálních genů pro **syndromy s monogenní dědičností** (KCNQ2, KCNQ3, CHRNA4, CHRNA2, CHRN2, SCN1B, SCN1A, SCN2A, GABRG2, GABRA1, LGI1, PCDH19, STXBP1, ARX, STK9/CDKL5) stále stoupá (viz tabulka). Ty se však vyskytují jen asi u 1 % všech pacientů s epilepsií a většinu těchto syndromů lze zahrnout mezi tzv. kanálopatie – jsou způsobeny mutacemi genů kódujících podjednotky iontových kanálů, nebo receptorů pro neurotransmitery řídící tyto kanály. Genetická příčina většiny idiopatických epilepsií (asi 40 % všech pacientů s epilepsií) však zůstává nejasná, což je patrně způsobeno tím, že jsou vyvolány mnohem komplexnějšími genetickými či vývojovými změnami. Většina se vyznačuje **dědičností**

komplexní či oligogenní, kdy se na jejich vzniku podílí kombinace mutací (variant) na různých genech. To se týká především idiopatických generalizovaných epilepsií (IGE) nebo benigní epilepsie s centrotemporálními hroty (BECTS), u nichž byly identifikovány některé **predispoziční geny** (angl. susceptibility genes), ale roli hrají i další, tzv. **modifikující geny** nebo vlivy prostředí. Každý z predispozičních genů může mít jen malý vliv na rozvoj komplexně děděných epilepsií a není proto smysluplné vyšetřovat jejich jednotlivé varianty. Přesný vliv těchto genů na rozvoj epilepsie nebyl zatím objasněn – viz níže uvedené příklady.

- Opakovaně byla prokázána vazba juvenilní myoklonické epilepsie (JME) k chromozomu 6 (6p21) nebo k variantám genu BRD2 (bromodomain containing 2) a ME2 (malic enzyme 2), ale kauzální mutace dosud prokázány nebyly (Greenberg et al., 2005; Pal et al., 2003).
- Mikrodelece na chromozomu 15q13.3 byly zaznamenány u 1 % všech IGE, ale jejich důsledky nebyly dosud objasněny (Helbig et al., 2009).
- Význam některých kandidátních genů – CACNA1H, CACNB4, GABRD a MASS1 (Dibbens et al., 2004; Escayg et al., 2000; Chen et al., 2003; Nakayama et al., 2002) – při vzniku komplexně děděných epilepsií čeká na potvrzení.
- Jen vzácné AD formy JME byly asociovány s mutací genu GABRA1 a EF-hand domain-containing genů (EFHC1 a EFHC2) (Cossette

et al., 2002; Suzuki et al., 2004) a CAE s FZ s mutací GABRG2 (Wallace et al., 2001).

- Význam genu CLCN2 pro vznik JME (Haug et al. 2003) byl vyvrácen a článek stažen – jednalo se o chybné pozorování (Niemeyer et al., 2010).

Objevy posledního desetiletí prokázaly, že **kanálopatie nejsou jediným mechanismem** vzniku idiopatických epileptických syndromů, ale že vznikají často v důsledku mutace genů kódujících proteiny důležité pro fyziologický vývoj CNS, jako např. PCDH19 nebo LGI1, a tyto epilepsie jsou vlastně vývojovými poruchami. V některých případech dokonce různé mutace téhož genu mohou vést podle závažnosti buď ke vzniku „idiopatické“ epilepsie, nebo „symptomatické“ epilepsie při makroskopicky patrné **vývojové abnormitě** (např. mutace ARX genu mají za důsledek buď infantilní spazmy, nebo syndrom X-vázané lisencefalie). Dostáváme se tak do „šedé zóny“ mezi idiopatickými a symptomatickými (kryptogenními) epilepsiemi, kdy současné znalosti a diagnostické možnosti přesnou klasifikaci zatím neumožňují.

Z hlediska genetické příčiny byly v posledních letech vedle jednoduchých mutací způsobujících kanálopatie prokázány i další změny, jako jsou např. **variace počtu kopií** (CNV) – strukturální změny DNA, kde určitý úsek chybí nebo se vyskytuje vícečetně. Průkaz těchto změn není některými vyšetřovacími metodami, např. konvenční sekvenční analýzou nebo metodami založenými na mutačním skenování možný (Ottman et al., 2010). Předpokládá se rovněž významný podíl různých vlivů epigenetických (kdy exprese genů je ovlivněna jinými ději než změnami DNA).

Genetické testování se již běžně používá při vyšetřování některých geneticky podmíněných **symptomatických epilepsií**, kde se epilepsie vyskytuje v rámci širšího postižení CNS, jako jsou progresivní myoklonické epilepsie (Unverricht–Lundborgova či Laforova choroba, nebo ceroid-lipofuscinózy) nebo některé poruchy kortikálního vývoje.

Vztah mezi genotypem a fenotypem bývá u idiopatických epilepsií často složitý a není většinou přímočarý dokonce ani u monogenně dědičných epilepsií. Existuje několik fenoménů, které jsou pro geneticky podmíněné epilepsie charakteristické:

Variabilní expresivita neboli variabilita fenotypu znamená, že táž genetická odchylka se klinicky může projevit různým klinickým obrazem. Nejlepším příkladem této variability je situace v rodinách GEFS+ s mutací SCN1A, kde například jeden

člen prodělá jen ojedinělý febrilní záchvat (FZ), zatímco u dalšího se rozvine syndrom Dravetové. Hovoří se pak o fenotypovém spektru.

Penetrance představuje pravděpodobnost, s jakou se u jedince s danou mutací epilepsie opravdu rozvine. U většiny monogenně dědičných epilepsií se uvádí kolem 70–80 %, s výjimkou mimořádně vysoké penetrance (90 %) například u benigních familiárních neonatálních záchvatů (BFNS).

Genetická heterogenicita způsobuje, že u pacientů s týmž fenotypem lze prokázat odlišné mutace v různých genech. Často jsou to geny kódující podjednotky týchž iontových kanálů (např. syndrom BFNS vzniká v přítomnosti mutací genů kódujících dvě podjednotky K+ kanálů – KCNQ2 a KCNQ3).

U některých syndromů nemusí být u části nemocných splňujících diagnostická kritéria prokázány – buď nejsou použitými testy detekovatelné, nebo je postižen dosud neznámý gen. Rovněž u onemocnění vyskytujících se *de novo* (sporadicky) je záchyt mutací zjišťovaných v rámci rodin většinou velmi vzácný.

Závěr

V poslední době byla odhalena genetická příčina mnoha onemocnění. Idiopatické epileptické syndromy jsou ty, u nichž byla již prokázána, nebo se předpokládá genetická příčina bez strukturálních změn CNS, a hlavním klinickým projevem jsou epileptické záchvaty. Byla popsána řada kauzálních genů pro monogenně dědičné syndromy, které se však vyskytují pouze u cca 1 % všech pacientů s epilepsií. Většina idiopatických epilepsií se vyznačuje komplexní či oligogenní dědičností, kde byly odhaleny některé predispoziční geny, kauzální mutace však nalezeny dosud nebyly a vliv těchto genů na riziko pro vznik epilepsie nebyl zatím objasněn. Užitečnost genetického testování u idiopatických epilepsií je ovlivněna některými genetickými fenomény, jako je variabilní expresivita, různá penetrance a genetická heterogenicita. Přehledná klinická charakteristika jednotlivých syndromů, současné znalosti o jejich genetických příčinách a možnostech testování budou zmíněny v **pokračování v příštím čísle**.

Děkujeme MUDr. Davidu Krýslovi za pomoc při přípravě článku.

Literatura

1. Cossette P, Liu L, Brisebois K, Dong H, Lortie A, Vanasse M, Saint-Hilaire JM, Carmant L, Verner A, Lu WY, Wang YT, Rouleau GA. Mutation of GABRA1 in an autosomal

dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2002; 31(2): 184–189.

2. Dibbens LM, Feng HJ, Richards MC, Harkin LA, Hodgson BL, Scott D, Jenkins M, Petrou S, Sutherland GR, Scheffer IE, Berkovic SF, Macdonald RL, Mulley JC. GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies. *Hum Mol Genet* 2004; 13(13): 1315–1319.

3. Escayg A, De Waard M, Lee DD, Bichet D, Wolf P, Mayer T, Johnston J, Baloh R, Sander T, Meisler MH. Coding and noncoding variation of the human calcium-channel beta4-subunit gene CACNB4 in patients with idiopathic generalized epilepsy and episodic ataxia. *Am J Hum Genet* 2000; 66(5): 1531–1539.

4. Greenberg DA, Cayanis E, Strug L, Marathe S, Durner M, Pal DK, Alvin GB, Klotz I, Dicker E, Shinnar S, Bromfield EB, Resor S, Cohen J, Moshe SL, Harden C, Kang H. Malic enzyme 2 may underlie susceptibility to adolescent-onset idiopathic generalized epilepsy. *Am J Hum Genet* 2005; 76(1): 139–146.

5. Haddow J, Palomaki G. ACCE: A model process for evaluating data on emerging genetic test. In: M., K., J., L., W., B., editors. *Human Genetic Epidemiology*. New York: Oxford University Press; 2004. p. 217–233.

6. Helbig I, Mefford HC, Sharp AJ, Guipponi M, Fichera M, Franke A, Muhle H, de Kovel C, Baker C, von Spiczak S, Kron KL, Steinich I, Kleefuss-Lie AA, Leu C, Gaus V, Schmitz B, Klein KM, Reif PS, Rosenow F, Weber Y, Lerche H, Zimprich F, Urak L, Fuchs K, Feucht M, Genton P, Thomas P, Visscher F, de Haan GJ, Moller RS, Hjalgrim H, Luciano D, Wittig M, Nothnagel M, Elger CE, Nurnberg P, Romano C, Malafosse A, Koeleman BP, Lindhout D, Stephani U, Schreiber S, Eichler EE, Sander T. 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genet* 2009; 41(2): 160–162.

7. Chen Y, Lu J, Pan H, Zhang Y, Wu H, Xu K, Liu X, Jiang Y, Bao X, Yao Z, Ding K, Lo WH, Qiang B, Chan P, Shen Y, Wu X. Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol* 2003; 54(2): 239–243.

8. Nakayama J, Fu YH, Clark AM, Nakahara S, Hamano K, Iwasaki N, Matsui A, Arinami T, Ptacek LJ. A nonsense mutation of the MASS1 gene in a family with febrile and afebrile seizures. *Ann Neurol* 2002; 52(5): 654–657.

9. Niemeyer M, Cid L, Sepúlveda F, Blanz J, Auberson M, Jentsch T. No evidence for a role of CLCN2 variants in idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genet* 2010; 42(1): 3.

10. Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, Serratos J, Zara F, Scheffer IE. Genetic testing in the epilepsies—report of the ILAE Genetics Commission. *Epilepsia* 2010; 51(4): 655–670.

11. Pal DK, Evgrafov OV, Tabares P, Zhang F, Durner M, Greenberg DA. BRD2 (RING3) is a probable major susceptibility gene for common juvenile myoclonic epilepsy. *Am J Hum Genet* 2003; 73(2): 261–270.

12. Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, Alonso ME, Shi J, Hara Y, Nishida M, Numata T, Medina MT, Takeuchi T, Morita R, Bai D, Ganesh S, Sugimoto Y, Inazawa J, Bailey JN, Ochoa A, Jara-Prado A, Rasmussen A, Ramos-Peek J, Cordova S, Rubio-Donnadieu F, Inoue Y, Osawa M, Kaneko S, Oguni H, Mori Y, Yamakawa K. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2004; 36(8): 842–849.

Článek doručení redakci: 21. 9. 2011

Článek přijat k publikaci: 19. 1. 2012

MUDr. Hana Krijtová

Centrum pro epilepsie Motol,
Neurologická klinika 2. LF UK a FN
Motol, Praha
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
hana.krijtova@fnmotol.cz

