

GENETICKÉ SYNDROMY SPOJENÉ S EPILEPSÍ

Přehled a diagnostické možnosti

***Vlčková M.¹, Štěrbová K.², Zárubová J.⁴, Laššuthová P.³, Krijtová H.⁴,
Hedvičáková P.¹, Marusič P.⁴, Kršek P.², Seeman P.³, Havlovicová M.¹***

1) Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha

2) Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

3) DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

4) Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Epilepsie

- Klinicky i etiologicky heterogenní jednotka
- Prevalence cca 1%
- Manifestace v různém věku
- Heterogenní etiologie
- Symptomatická či tzv. „idiopatická“
- Syndromická (sdružená s dalšími obtížemi) či izolovaná (nesyndromická)
- V databázi OMIM popsáno více než 5000 jednotek, řada z nich je asociována s epilepsií
- Řada z nich způsobena mutacemi v mtDNA – nemáme pokryto!

Epileptický vs. genetický syndrom

Epileptický syndrom

- Definovaný četností a typem záchvatů, nálezem na EEG, MRI, komorbiditou a případně odpovědí na terapii
- **Diagnostikuje neurolog**
- Příklady:
 - Westův syndrom
 - Lennox - Gastaut syndrom
 - Ohtahara syndrom
 - Juvenilní myoklonická epilepsie

Genetický syndrom

- Definovaný souborem příznaků zahrnujícím:
 - Typickou faciální dysmorfii
 - Vrozené vývojové vady/malformace
 - Další somatické abnormality
 - Neurovývojové postižení včetně epilepsie
- Diagnostikuje genetik (multioborová spolupráce)
- Příklady:
 - Edwardsův syndrom
 - Angelmanův syndrom
 - Rubinstein - Taybi syndrom
 - 22q11.2 mikrodelece (DiGeorge syndrom)

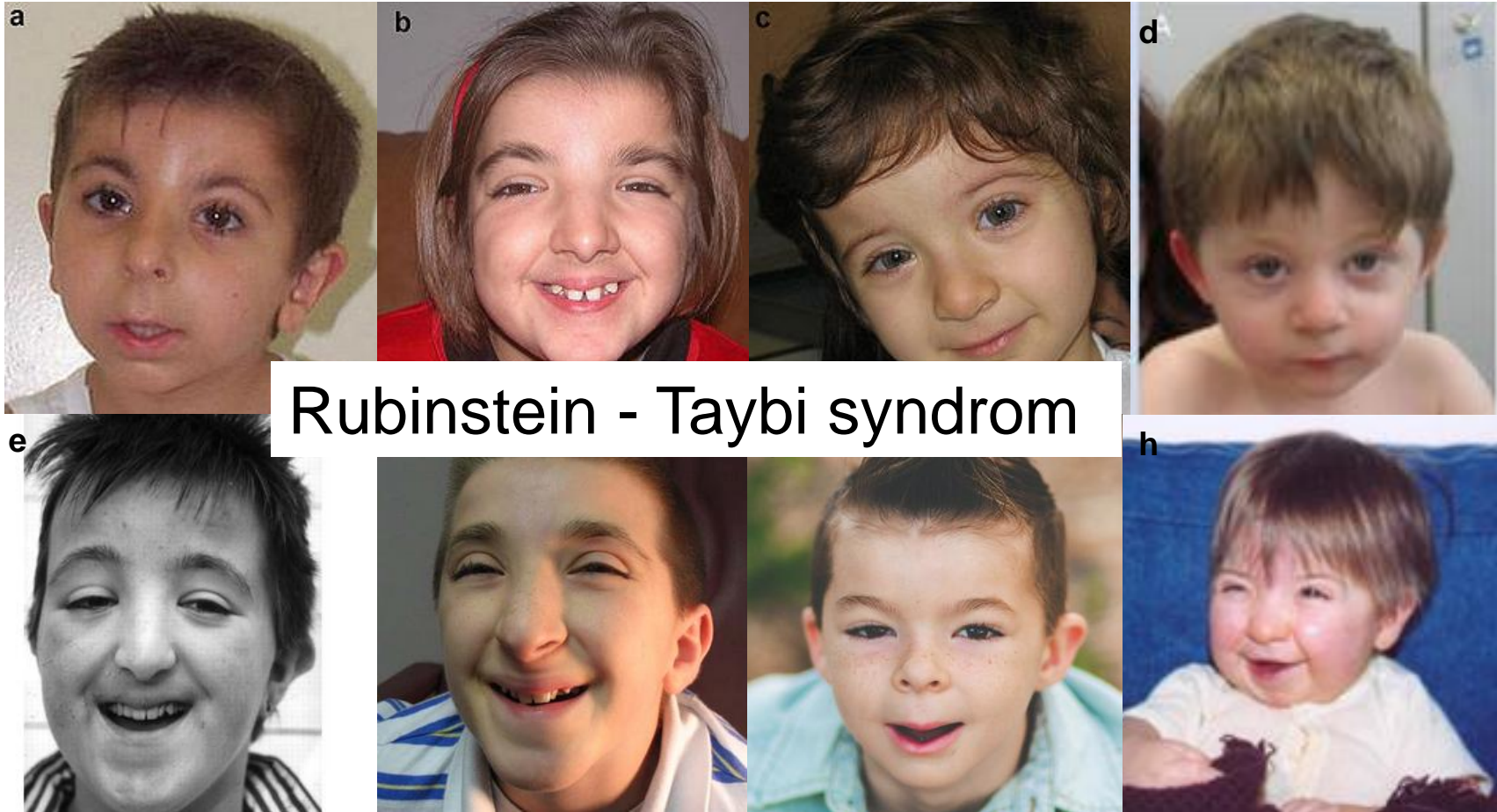
Izolovaná epilepsie tedy může být
z pohledu neurologa syndromická
a z pohledu genetika nesyndromická

Dysmorfológická analýza

Vzájemná podobnost pacientů



Vzájemná podobnost pacientů



a – c) https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rubinstein-Taybi_Syndrom2.jpg

d) Bartsch O. et al., 2010

e) van Genderen MM et al., 2000

f) Taren Cardona, BS and Al Kline, 2008

g) <https://sweetnectarsociety.org/silas-rubinstein-taybi-syndrom>

h) http://www.rtscanada.org/what_is.htm

Vývoj fenotypu v čase



Vývoj fenotypu v čase



Dysmorfologická analýza

Kdy má genetik šanci?

Dysmorfologická analýza

Kdy má genetik šanci?

Dobře popsané a (dlouho) známé
(časté) syndromy se specifickým
fenotypem a signálními příznaky

Časté syndromy s typickým fenotypem



Časté syndromy s typickým fenotypem



1

Sotos sy.



2

Costello sy.



3

Williams - Beuren sy.



4

Angelman sy.

1) <http://masliahgen564s14.weebly.com/>

2) <http://www.wasthisintheplan.co.uk/p/daisy-story-so-far.html>

3) Kaplan P. et al., 2001

4) <http://dxline.info/dictionary/angelman-syndrome>

Vzácné syndromy s typickým fenotypem



Vzácné syndromy s typickým fenotypem



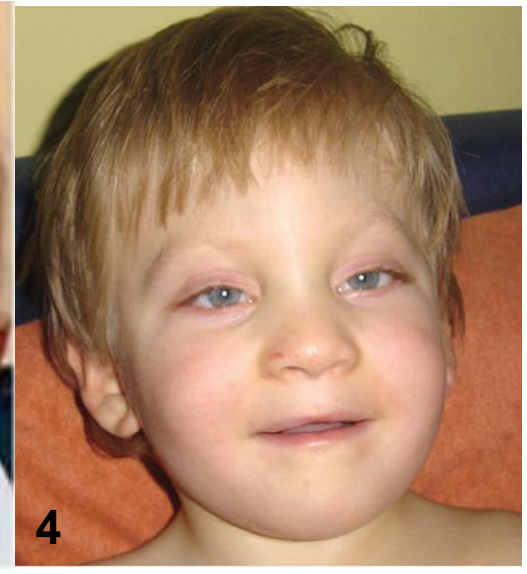
1 Pitt-Hopkins sy.



Coffin - Siris sy.



Nicolaides - Baraitser sy.



Kabuki sy.

1) Wahlen S. et al., 2012

2) Santen GW. Et al., 2012

3) Wolff D. et al., 2012

3) Paderova J. et al., 2016

Kdy nemá genetik šanci?

Nesyndromická epilepsie



Nesyndromická epilepsie



SCN1A

SCN2A

PRRT2

PCDH19

1) <http://www.epilepsydurham.com/epilepsy-resources/online-resources/2-uncategorised/180-dravet-syndrome>

2) - 4) ÚBLG FNM

Cílené vs. necílené genetické laboratorní vyšetření

Cílené vyšetření

- Volba při vážném podezření na konkrétní genetický syndrom
- Aplikovatelné u syndromů:
 - častých (s frekvencí vyšší než 1/20000)
 - dlouho známých (dostatek zkušeností)
 - klinicky dobře definovaných s dostatečně specifickým fenotypem a signálními příznaky
 - nemajících heterogenní příčinu (ideálně způsobených hot-spot variantami)
- Metody:
 - Karyotypování
 - Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH)
 - MLPA
 - Sekvenování dle Sangerova

Cílené vyšetření

- Výhody:
 - menší pravděpodobnost nejasného nálezu (VOUS – variant of unknown significance) či incidentalomu (nálezu nesouvisejícího s onemocněním)
 - rychlost
- Nevýhody (v případě mylného vstupního diagnostického předpokladu)
 - navyšování ceny vyšetření
 - prodloužení doby vyšetření
 - nižší pravděpodobnost odhalení příčiny epilepsie

Necílené vyšetření

- Metoda volby
 - u pacientů s nespecifickým fenotypem
 - u pacientů s fenotypem, který může odpovídat několika klinickým jednotkám
 - pacientů s podezřením na konkrétní syndrom, který má heterogenní etiologii
 - u pacientů, kde z důvodu předpokládaného „vzácného geneticky podmíněného onemocnění“ nemá klinik dostatek zkušeností, aby mohl diagnózu určit dle kliniky
- Výhody
 - vyšší pravděpodobnost odhalení příčiny
 - v řadě případů nižší náklady na vyšetření
- Nevýhody
 - časová náročnost
 - vyšší pravděpodobnost nálezu VOUS či incidentalomu (nález nesouvisející se základním onemocněním)

Necílené vyšetření - metody

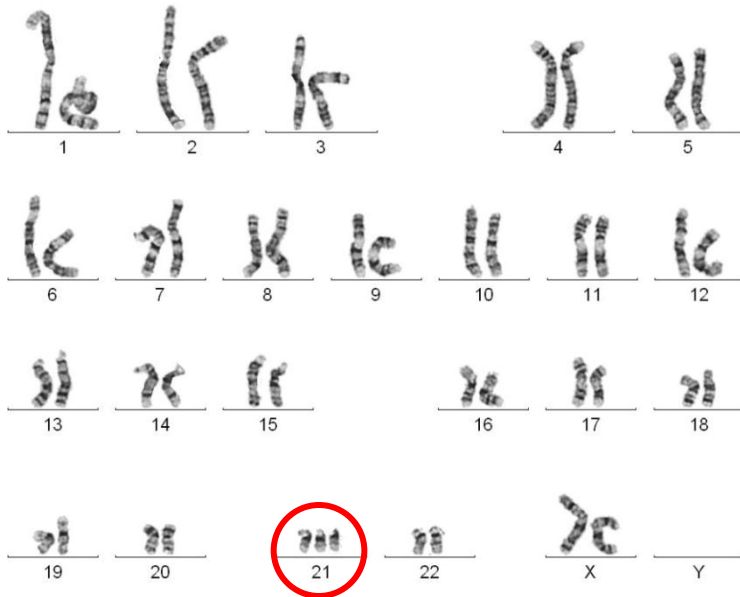
- Karyotypování – odhalí nerekurentní (unikátní) strukturní chromozomové aberace
- arrayCGH – odhalí nerekurentní/vzácné CNVs (mikrodelece/mikroduplikace) či rekurentní CNVs způsobující nespecifické obtíže
- Masivně paralelní sekvenování (MPS)/ sekvenování nové generace (NGS) – odhalí bodové mutace či drobné insdel varianty u pacientů s nespecifickým fenotypem či u pacientů s velmi vzácnou diagnózou, se kterou ošetřující lékaři již z definice nemohou mít dostatek zkušeností

Genetické příčiny epilepsie

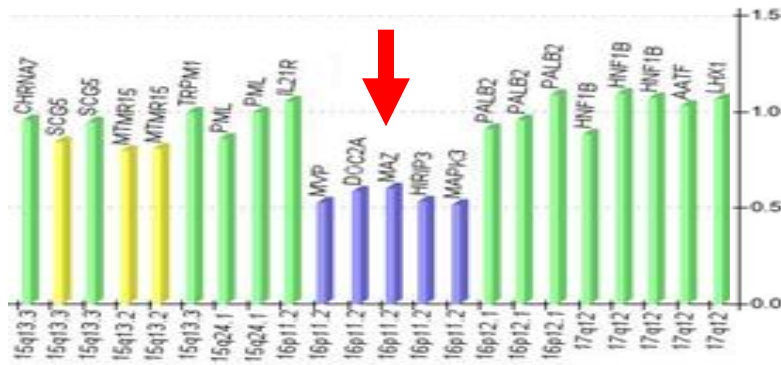
Chromozomové aberace (CHA)

- Numerické
 - Aneuploidie
- Strukturní
 - Translokace (nebalancované i balancované)
 - Ring (kruhové) chromozomy, malé nadpočetné marker chromozomy (sSMC), izochromozomy
 - submikroskopické - varianty v počtu kopií (CNV)
- zodpovědné přibližně za 10% (převážně) syndromických epilepsií
- rekurentní vs. nerekurentní/unikátní

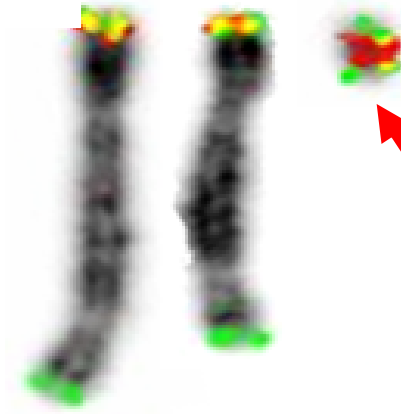
CHA – možnosti vyšetření



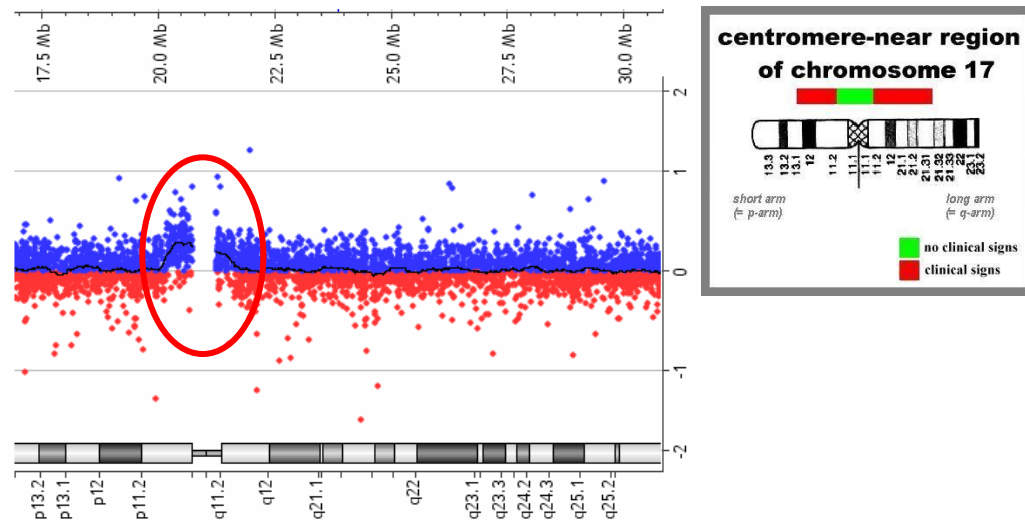
Karyotyp – trizomie 21



MLPA – mikrodelece 16p11.2



FISH – detekce sSMC



arrayCGH: 17p11.2q11.2 duplikace

CHA detekovatelné karyotypováním

<u>aberrace</u>	<u>syndrom</u>	<u>incidence*</u>	<u>frekvence epilepsie*</u>
trizomie 21	Downův	~ 1/650 - 1000**	NA
trizomie 18	Edwardsův	~1/6000-1/8000	NA
trizomie 13	Patauův	~ 1/8000-1/15000	80 - 99%
monozomie 4p16.3	Wolfův-Hirschhornův	~ 1/50000	80 - 99%
ring 20	NA	< 1/1000000	„častá“
ring 14	NA	< 1/1000000	NA

* <https://www.orpha.net/>, 19.9.2018

**<https://omim.org/clinicalSynopsis/190685>, 20.9.2018

* <https://rarediseases.info.nih.gov/> 20.9.2018

Rekurentní mikródelece

<u>syndrom</u>	<u>kritická oblast</u>	<u>incidence*</u>	<u>frekvence epilepsie *</u>
DiGeroge	22q11.2	~ 1/2000 - 4000	40%**
Slavotinek	1p36	~1/5000-1/10000	30 - 79%
Angelman	15q11-q13	~ 1/10000-1/20000	80 - 99%
Prader - Willi	15q11-q13	~ 1/25000	30 - 79%
Koolen - De Vries	17q21.31	~ 1/55000**	50%**
Phelan - McDermid	22q13.3	NA	30 - 79%
Miller - Dieker	17p13.3	~ 1/1000000	80 - 99%

* <https://www.orpha.net/>, 19.9.2018, ** Koolen et al, 2016

* <https://rarediseases.info.nih.gov/> 19.9.2018, ** <https://omim.org/>, 19.9.2018

1p36 mikrodelece



Jordan VK et al., 2015

- Chlapec vyšetřený v novorozeneckém věku pro křeče a stigmatizaci
- Delece 1p36 většího rozsahu zjištěná karyotypováním
- Časté symptomy:
 - PMR, MR, hypotonie
 - Absence řeči
 - Ventrikulomegalie
 - Abnormality na EEG
 - Epilepsie
 - Poruchy příjmu potravy, neprospívání
 - Strabismus, refrakční vady

Koolen - deVries



- Monozygotní dvojčata *1990, v péči ÚBLG od novorozeneckého věku pro mnohočetné VVV
- Diagnóza stanovena 2009, v té době již popsáný, ale málo známý syndrom
- Časté symptomy:
 - Hypotonie, PMR, MR
 - Přátelská povaha
 - Epilepsie
 - Kloubní hypermobilita
 - Gotické patro
 - Anomálie zubů

1,2) ÚBLG FNM

f,g) Koolen DA et al., 2006

Rekurentní mikroduplikace

<u>syndrom</u>	<u>prevalence</u>	<u>frekvence epilepsie</u>
15q11.2 mikroduplikace	2 - 5/10000	15-30%
16p11.2 mikroduplikace	NA	NA
17q12 mikroduplikace	NA	NA
Xq28 mikroduplikace	NA	NA

- Problematické z hlediska interpretace
- Málo údajů
- Neúplná penetrance
- Často zděděné od zdravého rodiče

Monogenní syndromy asociované s epilepsií

<u>syndrom</u>	<u>gen(y)</u>	<u>prevalence*</u>	<u>frekvence ** epilepsie</u>
sy. Fragilního X	<i>FMR1</i>	~ 1/4000 - 5000	5 - 29%
Rett (Klasický)	<i>MECP2</i>	~1/9000-1/30000	80 - 99%
Mowat-Wilson	<i>ZEB2</i>	~1/50000-1/70000	30 - 79%
Kabuki	<i>KMTD2, KDM6A</i>	~ 1/32000	NA
Sotos	<i>NSD1</i>	~ 1- 9/100000	5 - 29%
Rubinstein-Taybi	<i>CREBBP, EP300</i>	~ 1 /100000	5 - 29%
Borjeson-Forsman- Lehmann	<i>PHF6</i>	NA	5 - 29%
Pitt-Hopkins	<i>TCF4</i>	NA	30 - 79%
Nicolaides-Baraitser	<i>SMARCA2</i>	< 1/1000000	30 - 79%

* <https://www.orpha.net/>, 20.9.2018, ** <https://rarediseases.info.nih.gov/> 20.9.2018,

Mowat - Wilson syndrom



Ivanovski I. et al. 2018

- Chlapec vyšetřen v 15 měsících věku pro Hirschprungovu nemoc, opoždění PM vývoje a faciální dysmorfii, rodiče plánují další graviditu
- Vysloveno podezření na syndrom Mowat-Wilson
- Následně potvrzena *de novo* patogenní varianta c.2399C>G v genu *ZEB2*
- Časté symptomy:
 - Střední až těžká MR
 - Epilepsie
 - Mikrocefalie
 - Hirschprungova nemoc
 - Kryptorchismus

Börjeson-Forssman-Lehmann syndrom (BFLS)



- Dívka vyšetřena v 11,5 letech pro MR, stigmatizaci a hepatomegalii
- Dále skolióza, hyperpigmentace na kůži, makroglosie
- Základní vyšetření bez patologií, později vysloveno klinické podezření na BFLS
- Nalezena nepopsaná *de novo* varianta c.881T>C v genu *PHF6* (FN Ostrava)
- Časté symptomy:
 - Hypotonie, MR
 - Hypogonadismus
 - Trunkální obezita

ÚBLG FNM

Když přijde výsledek
z laboratoře

Klasifikace nalezených variant

- Třídy 1 – 5
- Class 1: benigní
- Class 2: pravděpodobně benigní
- Class 3: nejasná
- Class 4: pravděpodobně patogenní
- Class 5: patogenní
- Varianty třídy 1 a 2 se nereportují ani nesdělují pacientům (negativní výsledek vyšetření)
- Varianty třídy 4 a 5 jsou asociovány s onemocněním (pozitivní výsledek vyšetření)
- Varianty třídy 3 – problematické, reportují se a sdělují pacientům, u těchto variant však není jasné, zda souvisejí s obtížemi pacienta

Hodnocení variant

	<u>patogenní</u>	<u>benigní</u>
segregační analýza (AD)	<i>de novo</i>	od zdravého rodiče
segregační analýza (AR)	v pozici <i>trans</i>	v pozici <i>cis</i>
varianta	popsaná jako patogenní	popsaná u zdravých jedinců
typ varianty	loss of function	(missense), silent
predikční SW	patogenní	tolerovaná
fenotyp	odpovídá popsaným případům	neodpovídá popsaným případům

Reverzní fenotypování - kazuistika

- téměř 2letý chlapec, pozitivní perinatální anamnéza, těžká mikrocefalie, VCC – DKS, spastická diparéza, epilepsie se záchvaty lokal. začátku, vývoj na úrovni I. trimenonu
- karyotyp + arrayCGH – bez patologie
- panel – podezřelá varianta v *SCN1A*
- zděděná od zdravého rodiče, neodpovídá fenotyp
- WES – homozygotní nepopsaná missense varianta v *SLC1A4* genu
- OMIM: SPASTIC TETRAPLEGIA, THIN CORPUS CALLOSUM, AND PROGRESSIVE MICROCEPHALY; SPATCCM
- zpětné zhodnocení fenotypu - odpovídá
- prevalence < 1/1000000, předchozí klinické zkušenosti nejsou

Závěry

- Zkušený klinický genetik může rozpoznat řadu syndromů asociovaných s epilepsií a indikovat cílené vyšetření, avšak syndromologická analýza má své limitace (vývoj fenotypu v čase, vliv genového pozadí)
- Nalezené varianty je třeba interpretovat opatrně – v některých případech je příčinná souvislost varianty s onemocněním nedostatečně podložená a interpretace varianty se může v budoucnu změnit
- U velmi vzácných syndromů, kde chybí klinická zkušenost není šance na klinickou diagnózu
- U řady epilepsií se ani současnými metodami nedaří předpokládaná genetická etiologie odhalit

Děkuji za pozornost

Poděkování

- **DNA laboratoř (Klinika dětské neurologie)**
 - prof. MUDr. Pavel Seeman, Ph.D.
 - MUDr. Laššuthová Petra, Ph.D.
 - RNDr. Neupauerová Jana
 - Ing. David Staněk
 - Ing. Lucie Sedláčková, Ph.D.
- **Klinika dětské neurologie**
 - MUDr. Štěrbová Katalin
 - prof. MUDr. Kršek Pavel, Ph.D.
 - prof. MUDr. Komárek Vladimír, CSc.
 - prim. MUDr. Sebroňová Věra
 - MUDr. Petrák Bořivoj, CSc.
 - MUDr. Tesfayeová Alena
 - MUDr. Cíbochová Renata
 - MUDr. Paulas Lukáš
- **Neurologická klinika**
 - prof. MUDr. Marusič Petr, Ph.D.
 - MUDr. Krijtová Hana
 - MUDr. Zárubová Jana
- **ÚLBG**
 - prim. MUDr. Havlovicová Markéta
 - MUDr. Malíková Marcela
 - doc. MUDr. Maříková Taťána, CSc.
 - MUDr. Holubová Andrea
 - MUDr. Němčíková Michaela
 - MUDr. Vyhnálková Emilie, Ph.D.
 - MUDr. Tesner Pavel, Ph.D.
 - RNDr. Hedvičáková Petra
 - MUDr. Křepelová Anna, CSc.
 - RNDr. Novotná Drahuše
 - RNDr. Chudoba Daniel
 - Mgr. Drábová Jana, Ph.D.
 - Mgr. Štolfa Miroslav
 - Mgr. Rašplichková Tereza
 - Ing. Zůnová Hana
 - Mgr. Hančárová Miroslava, Ph.D.
 - prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.
 - Mgr. Veronika Moslerová, Ph.D.

Reference

- Bartsch O, Labonté J, Albrecht B, et al. Two patients with EP300 mutations and facial dysmorphism different from the classic Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet A*. 2010 Jan;152A(1):181-4.
- Ivanovski I., Djuric O, Caraffi SG. et al. Phenotype and genotype of 87 patients with Mowat–Wilson syndrome and recommendations for care. *Genetics in Medicine*, 2018
- Jordan VK, Zaveri HP and Scott DA. 1p36 deletion syndrome: an update. *Appl Clin Genet*. 2015 Aug 27;8:189-200.
- Kaplan P, Wang P, Francke U. Williams (Williams Beuren) syndrome: a distinct neurobehavioral disorder. *Journal Of Child Neurology*. (2001, Mar); 16(3): 177-190.
- Koolen DA, Vissers LE, Pfundt R, et al., A new chromosome 17q21.31 microdeletion syndrome associated with a common inversion polymorphism. *Nat Genet*. 2006 Sep;38(9):999-1001
- Koolen DA, Sharp AJ, Hurst JA, et al. Clinical and molecular delineation of the 17q21.31 microdeletion syndrome. *J Med Genet*. 2008 Nov;45(11):710-20
- Koolen DA, Pfundt R, Linda K, et al. The Koolen-de Vries syndrome: a phenotypic comparison of patients with a 17q21.31 microdeletion versus a KANSL1 sequence variant. *Eur. J. Hum. Genet*. 2016, 24, 652–659.
- Paděrová J, Holubová A, Simandlová M, et al. Molecular genetic analysis in 14 Czech Kabuki syndrome patients is confirming the utility of phenotypic scoring. *Clin Genet*. 2016 Sep;90(3):230-7.
- Santen GW, Aten E, Sun Y et al. Mutations in SWI/SNF chromatin remodeling complex gene ARID1B cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Genet*. 2012 Mar 18;44(4):379-80.
- Taren Cardona, BS and Al Kline, DPM. Rubinstein-Taybi Syndrome: A case report
- *The Foot & Ankle Journal* 1 (7): 3 (2008).
- van Genderen MM, Kinds GF, Riemsdag FC, Hennekam RC. Ocular features in Rubinstein-Taybi syndrome: investigation of 24 patients and review of the literature. *Br J Ophthalmol*. 2000 Oct;84(10):1177-84.
- Whalen S., Héron D., Gaillon T., et al. Novel comprehensive diagnostic strategy in Pitt-Hopkins syndrome: clinical score and further delineation of the TCF4 mutational spectrum. *Hum Mutat*. 2012 Jan;33(1):64-72.
- Wolff D, Endeley S, Azzarello-Burri S, et al. In-Frame Deletion and Missense Mutations of the C-Terminal Helicase Domain of SMARCA2 in Three Patients with Nicolaides-Baraitser Syndrome. *Mol Syndromol*. 2012 Apr;2(6):237-244. Epub 2012 Mar 16.