

Súlyos epilepsziás encephalopathia hátterében azonosított *MECP2*-gén-mutáció fiúbetegben

Düh Adrienn dr.¹ ■ Till Ágnes dr.¹ ■ Bánfai Zsolt^{1,2} ■ Hegyi Márta dr.³
Melegh Béla dr.^{1, 2} ■ Hadzsiev Kinga dr.^{1, 2}

¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Központ, Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

³A Magyarországi Református Egyház Bethesda Gyermekkórháza, Budapest

A szerzők egy negatív családi anamnéziséű, súlyos, neonatalis kezdetű epilepsziás encephalopathiában szenvedő, jelenleg két éves fiúgyermek esetét mutatják be. A terápiarezisztens epilepszia és az igen súlyos fejlődésbeli elmaradás etiológiáját kiterjedt klinikai vizsgálatokkal sem sikerült tisztázni. Genetikai okot feltételezve, külföldi genetikai laboratóriumban 128 gént tartalmazó újgenerációs szekvenálási (NGS-) panelvizsgálatot indikáltak epilepsziás encephalopathiát okozó betegségek irányában. A vizsgálat egy eddig ismeretlen hemizigóta misszensz mutációt igazolt a *MECP2*-génben. A szerzők az esetbemutatás kapcsán áttekinthetjük a lányokban klasszikusan Rett-szindrómát okozó, a *MECP2*-gén mutációi által előidézett idegfejlődési rendellenességek spektrumát fiúkban. Más, X-hez kötött domináns öröklődésű betegségekhez hasonlóan sokáig úgy gondolták, hogy a *MECP2*-gén-mutációt hordozó fiúmagzatok életképtelenek, napjainkra azonban ez a nézet megváltozott. A szerzők úgy tudják, hogy betegük az első magyar fiúgyermek, akinél a *MECP2*-gén mutációja igazolódott.

Orv Hetil. 2019; 160(51): 2036–2039.

Kulcsszavak: *MECP2*-gén, Rett-szindróma, újgenerációs szekvenálás, epilepsziás encephalopathia

MECP2 mutation in a male patient identified in the background of severe epileptic encephalopathy

Here we report on a severe, neonatal onset epileptic encephalopathy manifested in a currently 2-year-old boy with no family history of neurological disease. Extensive clinical investigations were unable to clarify the etiology of the infant's condition characterized by drug-resistant seizures and markedly delayed developmental skills. As in this class of disorders a genetic cause might be identified, a next-generation sequencing (NGS) epilepsy panel examination consisting of 128 genes was initiated for a correct diagnosis. The genetic analysis identified a previously undescribed hemizygous missense mutation in the *MECP2* gene. Similarly to other, X-linked dominant disorders, Rett syndrome was originally hypothesized to be lethal in males. This theory, however, has been revised. The aim of this report is to review the wide spectrum of neurodevelopmental diseases observed in male patients carrying mutations in the *MECP2* gene classically associated with Rett syndrome in girls. To the author's knowledge, this is the first report in Hungary to document *MECP2* mutation of a male patient diagnosed by molecular genetic testing.

Keywords: *MECP2* gene, Rett syndrome, next-generation sequencing, epileptic encephalopathy

Düh A, Till Á, Bánfai Zs, Hegyi M, Melegh B, Hadzsiev K. [*MECP2* mutation in a male patient identified in the background of severe epileptic encephalopathy]. Orv Hetil. 2019; 160(51): 2036–2039.

(Beérkezett: 2019. április 30.; elfogadva: 2019. május 24.)

Rövidítések

DNS = dezoxiribonukleinsav; EDTA = etilén-diamin-tetraacet-sav; EEG = elektroencefalográfia; *MECP2* = (methyl-CpG binding protein 2) metil-citozin-foszfát-guanin kötő fehérje-2;

MR = (magnetic resonance) mágneses rezonancia; NGS = (next-generation sequencing) újgenerációs szekvenálás; PCR = (polymerase chain reaction) polimeráz-lánreakció; VUS = (variant with unknown significance) ismeretlen jelentőségű variáns

A Rett-szindróma súlyos idegfejlődési rendellenesség, melynek legfőbb jellemzője a kezdetben teljesen normális ütemben zajló pszichomotoros fejlődést követő szignifikáns regresszió az addig elsajátított képességek területén, beleértve főként a motoros funkciókat, a kommunikációs készséget/beszédfejlődést és az akaratlagos kézmozgásokat. A szindrómát elsőként Andreas Rett osztrák gyermekneurológus írta le 1966-ban. A Rett-szindróma volt az első pervazív fejlődési zavar, melynek hátterében genetikai okot sikerült azonosítani 1999-ben. A típusos Rett-szindróma több mint 95%-ban, míg az atípusos Rett-szindróma több mint 75%-ban a *MECP2*-gén valamelyik mutációjára vezethető vissza [1].

Az X-kromoszómán elhelyezkedő, mindössze 4 exont tartalmazó *MECP2*-gén a pleiotrop MECP2-fehérjét kódolja, mely jelentős mennyiségben expresszálódik az agyszövetben, szabályozza a kromatinszerkezetet és a génextpressziót, interakcióba lép egyéb koregulátor transzkripciósi fehérjékkel, továbbá kulcsfontosságú epigenetikai modulátor a DNS-metilációban és a hiszton-acetilációban betöltött funkciója révén. A neuronális fejlődésben betöltött szerepének pontos mechanizmusa még nem teljesen tisztázott, az azonban jól ismert, hogy mind a *MECP2*-gén hiánya, mind fokozott expressziója egyértelműen károsítja a neuronális fejlődést [2, 3]. Fontos szerepet tölt be a dentritikus arborizációban, a *MECP2*-gén mutációja esetén jelentősen megváltozik a dendritsejtek morfológiája, csökken a dentrittüskék száma és átmérője is. Hasonló megfigyelést írtak le a *MECP2*-gén fokozott expressziója esetén is, ami jól szemlélteti, milyen érzékenyen vesz részt a *MECP2*-gén az idegrendszeri folyamatok szabályozásában [4].

Korábban azt feltételezték, hogy a *MECP2*-gént érintő mutációk – hasonlóan a legtöbb, X-hez kötött domináns öröklődésű betegséghez – csak lányokban fordulnak elő, mivel a hemizigóta fiú magzatokban letálisak [5]. Azonban már a *MECP2*-gén azonosításának évében, 1999-ben publikálták az első, fiúban előforduló esetet, amikor a súlyos klinikai kép (ismeretlen etiológiájú congenitalis encephalopathia, többszöri légzéskimaradás, korai halálozás) hátterében *MECP2*-mutáció igazolódott [6]. Azóta egyre több adat támasztja alá, hogy a fiúknál előforduló, *MECP2*-gént érintő mutáció nem feltétlenül okoz intrauterin elhalást, és az idegfejlődési betegségek széles spektrumaként manifesztálódhat [7, 8].

Esetismertetés

Intézetünkben egy 19 hónapos, pszichomotoros fejlődésében súlyosan elmaradt, kéthetes kora óta intractábilis epilepszia miatt gondozott fiúgyermeket vizsgáltunk.

Családi anamnézise negatív, két idősebb fiútestvére egészséges. III/3. zavartalan terhességből, a 38. gestációs hétre, 3680 g testsúllyal, megelőző császármetszés miatt sectio caesareával született. Cardiorespiratoricus adaptációja zavartalan volt.

Rohamai kezdetben váltott végtagú myoclonisatióknak, spasmusnak, majd fokális tónusos rohamoknak voltak megfeleltethetők. A rohamok gyógyszeres terápiára teljesen rezisztensek voltak. Az EEG-vizsgálatok kezdetben burst suppression mintázatot, majd szakaszos hypsarrhythmiát mutattak. A klinikailag korai kezdetű epilepsziás encephalopathia szindróma etiológiai hátterét tisztázandó kiterjedt klinikai vizsgálatok történtek. A koponya-MR-vizsgálat aspecifikus enyhe agyi atrófiát írt le. A szérum, a vizelet és a liquor anyagcsere-betegségek irányában történő vizsgálata szintén negatív eredményt adott.

Vizsgálatakor a kiseddel rövid szemkontaktuson kívül kapcsolatot nem lehetett teremteni, aktív mozgás, beszéd nem alakult ki. Számos alkalommal jelentkeztek fokális tónusos rohamai, illetve percnként láttunk myoclonisatióval, összerездüléssel járó görcsöket. Lényegi dysmorphiát nem észleltünk.

Módszer

A Pécsi Tudományegyetem Orvosi Genetikai Intézetének genetikai tanácsadójában részletes fenotípuselemzést végeztünk. A beteg törvényes képviselőjét a humángenetikai törvénynek megfelelően genetikai tanácsadásban részesítettük, ezt követően 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 alvadást gátló perifériás leukocytákból E.Z.N.A.[®] Blood DNA Maxiprep Kit-tel (VWR International Kft., Debrecen) izolált genomális DNS-mintát használtunk.

A beteg DNS-mintáját külföldi laboratóriumba (GENDIA – Genetic Diagnostic Network, Antwerpen, Belgium) küldtük ki egy 128 gént magában foglaló, újgenerációs szekvenálással (NGS) történő panelvizsgálat céljából epilepsziás encephalopathiát okozó betegségek irányában, melyhez a Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelőtől igényeltünk egyedi támogatást.

A szülők hordozósági vizsgálatát a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Genetikai Intézetének molekuláris genetikai laboratóriumában végeztük. A vizsgálat során mindkét szülő esetében célzottan a *MECP2*-gén c.1360-as pozíciót magában foglaló régióját amplifikáltuk laboratóriumunkban tervezett, a régióra specifikus primerpár felhasználásával, PCR alkalmazásával. Az amplifikációt követően a PCR során keletkezett DNS-fragmentek nukleotidsorrendjének meghatározása direkt szekvenálással, didezoxi láncterminációs módszerrel, bidirekcionálisan, Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer automata szekvenáló (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével történt meg.

Eredmények

Betegünknel a 128 gént magában foglaló, epilepsziás encephalopathiát okozó betegségek irányában történt NGS-panelvizsgálat során a *MECP2*-génben egy hemizigóta c.1360G>C misszensz eltérést detektáltak, mely glicin-arginin-cserét okoz a fehérje 454-es aminosavpozíciójában (p.Gly454Arg). A talált eltérés a szakirodalomban eddig ismeretlen, különböző predikációs szoftve-ekkel (SIFT, Mutation Taster, PolyPhen-2) vizsgálva azonban patogén megítélésű, a külföldi laboratórium beszámolójában VUS-ként (variant with unknown significance) klasszifikált. A *MECP2*-génben detektált eltérést betegünk fenotípusával összevetve a szakirodalomban neonatalis súlyos encephalopathia néven ismert diagnózis állítható fel. A szülők hordozósági vizsgálata során az édesapa a vizsgált mutációra nézve normál genotípusúnak bizonyult, míg a tünetmentes édesanyjánál heterozigóta formában kimutattuk a fiúgyermekénél észlelt c.1360G>C misszensz mutációt a *MECP2*-génben.

Megbeszélés

A korai kezdetű epilepsziás encephalopathia klinikai tüneteit mutató fiúbeteg etiológiai diagnózisához újgenerációs molekuláris genetikai vizsgálattal jutottunk. A szülők vizsgálata során az édesanya hordozósága igazolódott, aki feltehetően az eltolódott X-inaktiváció miatt tünetmentes. A szakirodalomban ismert néhány hasonló familiáris eset [9]. A családot genetikai tanácsadás keretében tájékoztattuk az ismétlődési kockázatról, a praenatalis vizsgálatot felajánlottuk egy következő terhesség esetén.

A lányokban gyakrabban kimutatott *MECP2*-mutáció háttérben több tényező is szerepet játszik. Egyrészt a lányokban a *MECP2*-gén mutációi a széles körben használt kritériumrendszer alapján klinikailag jól felismerhető típusos vagy atípusos Rett-szindróma tüneteiben nyilvánulnak meg. Fiúkban ugyanezen mutációk széles tünetspektrumot magukban foglaló betegségeként manifesztálódnak, így fiúk esetén jóval ritkábban gondolunk a *MECP2*-mutációk kóroki szerepére. Másrészt a *MECP2*-gén mutációi többnyire *de novo* mutációk, melyek főleg a rendkívül gyorsan osztódó ivarsejtekben, a spermiumokban jönnek létre. A mutálódott spermium pedig – mivel a *MECP2*-gén az X-kromoszómán helyezkedik el – csak beteg lánymagzatot hozhat létre. A fiúkban előforduló, *MECP2*-mutáció következtében kialakuló betegségek háttérben a jóval ritkábban előforduló, a petesejtben létrejövő *de novo* mutáció állhat, illetve, ahogy esetünkben is, előfordulhat az édesanyától örökölt mutáció is.

A *MECP2*-gén mutációi fiúkban idegfejlődési kórképek széles spektrumában nyilvánulnak meg, és a lányokban látott, a Rett-szindrómára egyébként jellemző tünetek csak ritkán jelennek meg. Neul és mtsai 30, *MECP2*-mutációt hordozó fiúbeteg retrospektív vizsgálatának összegzéseként megállapították, hogy a *MECP2*-mutációt hordozó fiúk 4 csoportba sorolhatók: (1) klasz-

szikus Rett-fenotípus csak szomatikus mutációt hordozó betegekben fordult elő, (2) súlyos neonatalis encephalopathia, (3) súlyos értelmi akadályozottság volt észlelhető a betegek felében, a betegek nagy többsége (4) a lányokban jelentkezőnél súlyosabb kórlefoyasú atípusos Rett-fenotípust mutatott. Az utóbbit új diagnosztikus entitásként fiúkban előforduló Rett-encephalopathiaként kategorizálták [10]. Fontos tehát elkülöníteni a *MECP2*-mutáció következtében fiúkban és lányokban létrejövő klinikai képet: fiúkban nem a típusos Rett-szindróma klinikai képével találkozunk, a kialakuló tünetek általában jóval súlyosabbak, és változatosabb formában jelentkeznek.

Az újgenerációs szekvenálási módszerek elterjedésével fokozatosan növekszik az epilepsziás encephalopathiával összefüggésbe hozható gének száma, melyek megismerésével egyre mélyebb betekintést kaphatunk a betegség neurobiológiai háttérébe: 'csatornapátia', szinaptikus diszfunkció, transzporterdefektus, transzkripciódiszreguláció, károsodott DNS-javító mechanizmus, kromatinremodelling mind szerepet játszik a betegség patomechanizmusában.

Az általunk bemutatott beteg esete is jól reprezentálja, hogy a *MECP2*-génben létrejövő mutációk fiúmagzatokban nem minden esetben letálisak, a lányokban észlelhetőtlől jelentősen különböző és súlyosabb fenotípust alakítanak ki, például a bemutatott neonatalis súlyos encephalopathiát.

Tekintettel az epilepsziás encephalopathia genetikai heterogenitására, más szerzőkkel egyetértésben úgy gondoljuk, hogy az újgenerációs szekvenálási technikáknak létjogosultságuk van az ismeretlen etiológiájú epilepsziás encephalopathia kivizsgálásában [11].

Anyagi támogatás: Ez a munka az OTKA K119540, GINOP-2.3.2-15-2016-00039, EFOP 3.6.1-16-2016-00004, valamint NKFI PD115677 támogatásával jött létre.

Szerzői munkamegosztás: D. A. és T. Á. a klinikai részt és a megbeszélést, B. Zs. a módszereket és az eredményeket bemutató részt írta. A molekuláris genetikai vizsgálatokat és az eredmények kiértékelését B. Zs. végezte. H. K. és H. M. vizsgálta a beteget, H. K. és M. B. véleményezte és javította a kéziratot. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] Neul JL, Kaufmann WE, Glaze DG, et al. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. *Ann Neurol.* 2010; 68: 944–950.
- [2] Zachariah RM, Rastegar M. Linking epigenetics to human disease and Rett syndrome: the emerging novel and challenging concepts in *MECP2* research. *Neural Plast.* 2012; 2012: 415825.

- [3] Krishnan K, Lau BY, Ewall G, et al. *MECP2* regulates cortical plasticity underlying a learned behaviour in adult female mice. *Nat Commun.* 2017; 8: 14077.
- [4] Na ES, Monteggia LM. The role of MeCP2 in CNS development and function. *Horm Behav.* 2011; 59: 364–368.
- [5] Hagberg B, Aicardi J, Dias K, et al. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. *Ann Neurol.* 1983; 14: 471–479.
- [6] Wan M, Lee SS, Zhang X, et al. Rett syndrome and beyond: recurrent spontaneous and familial *MECP2* mutations at CpG hotspots. *Am J Hum Genet.* 1999; 65: 1520–1529.
- [7] Reichow B, George-Puskar A, Lutz T, et al. Brief report: systematic review of Rett syndrome in males. *J Autism Dev Disord.* 2015; 45: 3377–3383.
- [8] Villard L. *MECP2* mutations in males. *J Med Genet.* 2007; 44: 417–423.
- [9] Zhang Q, Zhao Y, Bao X, et al. Familial cases and male cases with *MECP2* mutations. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2017; 174: 451–457.
- [10] Neul JL, Benke TA, Marsh ED, et al. The array of clinical phenotypes of males with mutations in methyl-CpG binding protein 2. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2019; 180: 55–67.
- [11] McTague A, Howell KB, Cross JH, et al. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *Lancet Neurol.* 2016; 15: 304–316.

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

PÁLYÁZAT

A **Prof. Dr. Romics László Akadémikus Emlékére Alapítvány** pályázatot hirdet Magyarországon dolgozó, magyar állampolgárságú, 40 éven aluli orvosok és orvosbiológiai kutatással foglalkozó személyek számára. A nyertes pályázó(k) között 500 000 Ft alapítványi adomány kerül kiosztásra.

A pályázat célja: a klinikai gyógyítás vagy orvosi tudományos kutatás területén dolgozók kiemelkedő tudományos tevékenységének elismerése.

Előnyt élveznek azok a pályázók, akik az alapítvány névadójának munkásságát folytatva cardiovascularis és anyagcsere-betegségek területéről nyújtanak be pályázatot.

A pályázat benyújtásának határideje: **2020. január 31.** (elbírálásának határideje: 2020. április 30.)

A pályázatot a palyazat@romicsalapitvany.hu e-mail címre pdf formátumban kell benyújtani.

A pályázatot természetes személy, saját nevében, magyar nyelven nyújthatja be, a pályázati anyag ábrák nélkül maximum 15 000 leütés (karakter) terjedelmű lehet. A pályázathoz mellékelni kell egy rövid szakmai életrajzot a születési év megjelölésével.

A pályázat benyújtását saját kézzel aláírt és dátummal ellátott levélben kell bejelenteni az alapítvány titkárnak címezve (**a borítékra írandó cím: dr. Dudás Márta, 1461 Budapest, Pf. 62**) könyvelt (ajánlott) küldeményben, mert ezen bejelentés alapján válik hitelessé a pályázat. A pályázatot nyomtatott formában **nem kell** mellékelni.

Az alapítvány adatairól, működéséről a www.romicsalapitvany.hu honlapon található információ.