

# Клинико-генетические характеристики ранней эпилептической энцефалопатии 66-го типа (обзор литературы и собственное наблюдение)

Т.В. Маркова<sup>1</sup>, А.О. Боровиков<sup>1</sup>, Е.Р. Лозьер<sup>2</sup>, А.А. Исаев<sup>3</sup>, В.С. Каймонов<sup>3</sup>, Е.А. Померанцева<sup>3</sup>,  
Ф.А. Коновалов<sup>2</sup>, О.А. Щагина<sup>1</sup>, Е.Л. Дадали<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБГНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Минобрнауки России;  
Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

<sup>2</sup>Лаборатория клинической биоинформатики; Россия, 123181 Москва, ул. Катукова, 21, корп. 1;

<sup>3</sup>Центр генетики и репродуктивной медицины «Генетико»; Россия, 119333 Москва, ул. Губкина, 3, корп. 1

**Контакты:** Елена Леонидовна Дадали genclinic@yandex.ru

Представлено первое описание клинико-генетических характеристик российского больного с ранней эпилептической энцефалопатией 66-го типа. С помощью полноэкзомного секвенирования обнаружена ранее описанная гетерозиготная мутация NM\_001100913.2: c.625G>A (p.Glu209Lys) в гене PACS2. Данное моногенное заболевание является уникальным в группе ранних эпилептических энцефалопатий — у всех пациентов обнаруживается одинаковый патогенный вариант нуклеотидной последовательности, но клинические проявления отличаются по степени тяжести и выраженности дизморфических признаков, что предположительно обусловлено разным генетическим фоном. Клиническое изучение серий случаев рекуррентных патогенных вариантов позволяет оптимизировать тактику ведения новых пациентов при обнаружении уже известного генетического варианта.

**Ключевые слова:** эпилептическая энцефалопатия, ген PACS2, секвенирование экзона

**Для цитирования:** Маркова Т.В., Боровиков А.О., Лозьер Е.Р. и др. Клинико-генетические характеристики ранней эпилептической энцефалопатии 66-го типа (обзор литературы и собственное наблюдение). Нервно-мышечные болезни 2020;10(1):88–92.

DOI: 10.17650/2222-8721-2020-10-1-88-92



## Clinical and genetic characteristics of the early 66<sup>th</sup> type epileptic encephalopathy (literature review and own observation)

T. V. Markova<sup>1</sup>, A. O. Borovikov<sup>1</sup>, E. R. Lozier<sup>2</sup>, A. A. Isaev<sup>3</sup>, V. S. Kaimonov<sup>3</sup>, E. A. Pomerantseva<sup>3</sup>,  
F. A. Kononov<sup>2</sup>, O. A. Schagina<sup>1</sup>, E. L. Dadali<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Center of Medical Genetics named after academician N. P. Bochkov; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>Independent Clinical Bioinformatics Laboratory; Build. 1, 21 Katukova St., Moscow 123181, Russia;

<sup>3</sup>Center for Genetics and Reproductive Medicine "Genetico"; Build. 1, 3 Gubkina St., Moscow 119333, Russia

Early epileptic encephalopathy-66 was first diagnosed in a male patient from Russia using whole-exome sequencing. Early epileptic encephalopathy-66 is a unique disorder in the group of early epileptic encephalopathies. The same recurrent heterozygous variant of the nucleotide sequence was found in all known patients, but the severity of seizures and dysmorphic signs significantly vary between patients. The current study of a recurrent pathogenic variant in PACS2 gene expands the phenotype spectrum of early epileptic encephalopathy-66 and will improve the management of patients with that disorder in Russia in the future.

**Key words:** epileptic encephalopathy, PACS2 gene, exome sequencing

**For citation:** Markova T. V., Borovikov A. O., Lozier E. R. et al. Clinical and genetic characteristics of the early 66<sup>th</sup> type epileptic encephalopathy (literature review and own observation). Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases 2020;10(1):88–92. (In Russ.).

### Введение

Моногенные варианты ранних эпилептических энцефалопатий (РЭЭ) — группа генетически гетерогенных заболеваний, характеризующихся фармакорезистентными судорогами, манифестирующими до 2-летнего возраста, при отсутствии инфекционного или травма-

тического повреждения мозга. По мнению ряда авторов, они составляют от 20 до 50 % эпилепсий младенческого возраста, а среди заболеваний с дебютом судорог в возрасте до 2 мес на их долю приходится от 60 до 80 % [1]. К настоящему времени идентифицировано 85 генетических вариантов РЭЭ, список которых

продолжает расширяться. Самые распространенные генетические варианты обусловлены нуклеотидными заменами в генах, продукты которых формируют альфа-субъединицы натриевых каналов нейронов, а также участвуют в формировании и функционировании синапсов. Однако фенотипические проявления редких вариантов РЭЭ и спектр нуклеотидных замен в генах, приводящих к их возникновению, изучены недостаточно [2]. Одним из редких аутосомно-доминантных вариантов группы моногенных эпилепсий является РЭЭ 66-го типа. Клинические проявления у всех больных сходны и характеризуются сочетанием судорожных пароксизмов, манифестирующих в первые месяцы жизни, задержкой психоречевого развития, аутизмом, дизморфическими чертами лица и дисгенезией мозжечка, обнаруживаемой при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. У большинства больных регистрируются фокальные моторные пароксизмы, а в ряде случаев отмечаются вегетативные и генерализованные тонические и тонико-клонические судороги. При проведении электроэнцефалографии (ЭЭГ) обнаруживается увеличение количества острых волн, при этом гипсаритмий и пароксизмов «вспышка—подавление» не наблюдается. В возрасте до 1 года судороги сложно купировать, однако в более старшем возрасте появляется возможность подобрать эффективную терапию. Заболевание обусловлено мутациями в гене *PACS2*, локализованном на 14-й хромосоме q32.33 [3].

Белковый продукт гена *PACS2*, экспрессируясь в эмбриональном периоде, играет существенную роль в формировании нейронных сетей коры головного мозга, также контролирует гомеостаз эндоплазматического ретикулума и формирование его липидного центра на мембране, ассоциированной с митохондриями [4]. Предполагается, что возникновение черепно-лицевых дизморфий у больных с мутациями в гене *PACS2* может быть результатом нарушения миграции предшественников клеток нервного гребня [5].

#### Клинический случай

Пробанд-мальчик — единственный ребенок в семье, где родители не состояли в родстве, родился от первой физиологически протекавшей беременности, в срок, с массой тела 3370 г, длиной 56 см. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. До 3 мес рос и развивался соответственно возрасту. Ребенок держал голову, гулил, следил за предметами. В 3 мес без видимой причины впервые возник генерализованный тонико-клонический пароксизм, перешедший в эписитус. С момента возникновения судорожных приступов темпы раннего моторного развития резко замедлились. Ребенок снова стал держать голову только к возрасту 1 года, научился ползать в 1 год и 2 мес, самостоятельно ходить в 1 год и 7 мес. Назначенное в возрасте 3 мес лечение противоэпилептическими препаратами — конвулексом в сочетании с кепрой —



**Рис. 1.** Пробанд, 2 года 7 мес. Умеренный гипертелоризм глаз, широкий корень носа, макростомия, низко расположенные ушные раковины с массивной мочкой

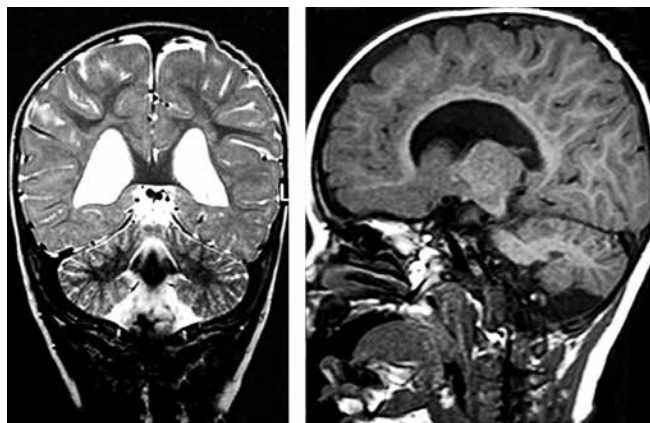
**Fig. 1.** Proband, at the age of 2 years and 7 months. Moderate eye hypertelorism, wide root of the nose, macrostomia and low set ears with a large lobes

привело к ремиссии судорог в течение 3 мес. Однако в возрасте 6 мес, несмотря на проводимую терапию, судороги возобновились с частотой 1 раз в 4 дня с общим числом эпизодов до 5 раз в сутки. Ребенку неоднократно корректировали противоэпилептическую терапию, которая приводила к уменьшению частоты судорожных пароксизмов, однако ремиссии продолжительностью 6 мес удалось добиться только в возрасте 2 лет при назначении терапии на комбинации 3 препаратов: кепры, трилентала и депакина.

При осмотре ребенка врачом-генетиком в возрасте 2 лет 7 мес рост больного составил 103 см, масса тела 15 кг, окружность головы 45,5 см. Отмечены нерезко выраженные лицевые дизморфии: умеренный глазной гипертелоризм, широкий корень носа, макростомия, низко расположенные ушные раковины с массивной мочкой, выступающие резцы (рис. 1).

При неврологическом осмотре выявлена выраженная задержка психоречевого развития. Экспрессивной речи не было, понимание обращенной речи отсутствовало, инструкции не выполнял, эмоциональные переживания выражал криком. Навыки опрятности и самообслуживания сформированы не были. Отмечались специфические стереотипии в руках: взмахи, похлопывания и потирание кистей. В неврологическом статусе доминировали симптомы спиноцереbellлярной атаксии, отмечались умеренно выраженная диффузная мышечная гипотония и снижение сухожильных рефлексов с ног. Патологии слуха, зрения и внутренних органов не выявлено.

При проведении ЭЭГ-видеомониторинга (ВЭЭГ) зарегистрирована единичная эпилептиформная активность в виде низкоамплитудных спайков в задневисочно-затылочных областях. На МРТ головного мозга обнаружены нерезко выраженное расширение боковых желудочков и гипоплазия червя мозжечка (рис. 2).



**Рис. 2.** Пробанд, 1 год 6 мес. Магнитно-резонансная томография головного мозга: расширение боковых желудочков и гипоплазия червя мозжечка

**Fig. 2.** Proband, at the age 1 year and 6 months. Brain magnetic resonance imaging: the enlargement of the lateral ventricles and hypoplasia of cerebellar worm

Таким образом, на основании анамнеза, особенностей клинических проявлений и течения болезни, а также результатов ВЭЭГ и МРТ головного мозга предполагалось наличие у пациента одного из генетических вариантов РЭЭ.

Для уточнения диагноза проведено полноэкзомное секвенирование.

#### Материалы и методы

Был проведен анализ ДНК пациента на секвенаторе Illumina NovaSeq 6000 методом парно-концевого чтения ( $2 \times 100$  п. о.). Ширина покрытия ( $10\times$ ) составила 96,54 %, среднее покрытие 97.6%.

Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Обогащение ДНК проведено с применением зондов Agilent SureSelect Human All Exon V7.

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением ряда методов предсказания патогенности замен (SIFT, PolyPhen<sup>2</sup>-HDIV, PolyPhen<sup>2</sup>-HVAR, MutationTaster, LRT), а также методов расчета эволюционной консервативности позиций (PhyloP, PhastCons). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки проектов «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и данные литературы.

#### Результаты

В результате секвенирования обнаружена ранее описанная гетерозиготная мутация NM\_001100913.2: c.625G>A (p.Glu209Lys) в гене *PACS2*. Данный вариант не был обнаружен в популяционной базе данных gnomAD. С помощью прямого секвенирования по Сэнгеру наличие мутации у ребенка было подтверждено. У родителей мутация отсутствовала, что свидетельствовало о ее происхождении *de novo*.

#### Обсуждение

Идентификация генетического варианта наследственного заболевания, сопровождающегося судорожным синдромом, позволяет не только повысить эффективность профилактики возникновения повторных случаев заболевания в отягощенных семьях, но и выбрать эффективную терапевтическую стратегию [6]. К настоящему времени в литературе описано 15 больных из различных популяций с РЭЭ 66-го типа, у 14 из которых, также как и у нашего больного, обнаружена гетерозиготная мутация c.625G>A (p.Glu209Lys) в гене *PACS2*. Это позволяет рассматривать эту мутацию в качестве мажорной. Функциональный анализ, проведенный Н.Е. Olson и соавт., показал, что у белка *PACS2* с аминокислотной заменой Glu209Lys существенно снижена способность взаимодействия с другими белками, что приводит к нарушению важных клеточных функций [3]. У всех описанных в литературе больных первые судорожные пароксизмы возникли в возрасте 2 нед и лишь у одного – в возрасте 2 мес. Наиболее часто отмечались фокальные моторные пароксизмы с периодическими генерализованными тонико-клоническими эпизодами и различной локализацией очагов эпилептиформной активности на ЭЭГ.

К настоящему времени в гене *PACS2* описана еще одна нуклеотидная замена c.631G>A (p.Glu211Lys), возникшая *de novo* у пациента с эпилепсией с дебютом приступов в возрасте 3 дней, дискинезией мозжечка и лицевыми дизморфиями [7]. Первый адверсивный приступ возник на фоне респираторного дистресса и сопровождался потерей сознания. После назначенной терапии фенобарбиталом наблюдалась ремиссия до возраста 11 мес, после которой в ответ на снижение дозировки препарата судороги возобновились. С переходом на терапию вальпроевой кислотой в сочетании с вигабатрином приступы удалось купировать, а в возрасте 6 лет полностью отменить препараты. Дополнительные молекулярные эксперименты по подтверждению патогенности данного варианта не проводились, но соответствие клинической картины РЭЭ у пациента позволяет считать, что наличие других вариантов нуклеотидных замен в гене *PACS2* также может приводить к возникновению РЭЭ 66-го типа.

В литературе описаны также 16 пациентов с терминальной микроделецией в области длинного плеча 14-й хромосомы, где локализованы гены *PACS2*, *NUDT14*,



*BRF1*, *VTBD6*, *MTA1*, и *TEX22*, у 4 из которых в анамнезе наблюдались судорожные пароксизмы. Наряду с этим у 20 пациентов с кольцевой 14-й хромосомой с вовлечением локуса гена *PACS2* также отмечали эпилептические приступы в сочетании с микроцефалией и мышечной гипотонией, с положительным эффектом в ответ на противоэпилептическую терапию [8–10].

В популяционной базе данных gnomAD встречается много вариантов нуклеотидной последовательности, приводящих к потере функции гена *PACS2*, и расчетная вероятность отсутствия толерантности к вариантам с потерей функции (PLi score) составила 0. Это позволяет сделать вывод о доминантно-негативном механизме выявленных мутаций в гене *PACS2*, приводящих к возникновению РЭЭ 66-го типа, и предположить, что механизм развития эпилепсии у пациентов с хромосомными перестройками в области 14-й хромосомы необязательно связан с гаплонедостаточностью гена *PACS2*. Это факт необходимо учитывать при трактовке результатов проведения секвенирования экзона и оценке патогенности вновь выявленных нуклеотидных замен.

### Заключение

К настоящему времени в мировой литературе описано 15 больных с патогенными вариантами в гене *PACS2*, у 14 из которых обнаружена мутация с.625G>A (p.Glu209Lys) и установлен диагноз РЭЭ 66-го типа, а у 1 больного с эпилепсией развития, дисгенезией мозжечка и лицевыми дизморфиями зарегистрирован вероятно патогенный вариант с.631G>A (p.Glu211Lys) [3, 7].

Оба варианта локализованы в 6-м экзоне гена и нарушают аминокислотную последовательность срединного домена белка. Под нашим наблюдением находился российский пациент в возрасте 2 лет и 7 мес с наличием ранее выявленной мутации с.625G>A (p.Glu209Lys). Клинические проявления заболевания у наблюдаемого нами больного были сходны с таковыми у всех больных, описанных в литературе, однако в отличие от большинства пациентов с РЭЭ 66-го типа, у которых судороги манифестировали в 1-й мес жизни, у нашего больного первые судорожные пароксизмы возникли в возрасте 3 мес. Кроме того, его судорожные пароксизмы были однотипными, в виде генерализованных тонических спазмов, а не фокальных моторных пароксизмов, наблюдаемых у большинства больных с РЭЭ 66-го типа, а дизморфические черты лица были выражены нерезко. Важно отметить, что, как и у большинства больных, в возрасте 2 лет удалось добиться длительной ремиссии судорог с помощью назначения 3 противоэпилептических препаратов.

Таким образом, на основании анализа клинико-генетических характеристик больных с РЭЭ 66-го типа, описанных в литературе, и наблюдаемого нами больного можно сделать заключение о существовании мажорной гетерозиготной мутации с.625G>A (p.Glu209Lys) в гене *PACS2*. Накопление данных о терапевтическом ведении пациентов позволяет при обнаружении такой же замены у пациента как можно раньше выбрать оптимальную схему противосудорожной терапии, позволяющей добиться длительной ремиссии или полного прекращения судорог.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Trump N., McTague A., Brittain H. et al. Improving diagnosis and broadening the phenotypes in early-onset seizure and severe developmental delay disorders through gene panel analysis. *J Med Genet* 2016;53(5):310–7. DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103263. PMID: 26993267.
2. Thevenon J., Duffourd Y., Masurel-Paulet A. et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin Genet* 2016;89(6):700–7. DOI: 10.1111/cge.12732. PMID: 26757139.
3. Olson H.E., Jean-Marcas N., Yang E. et al. A recurrent *de novo* *PACS2* heterozygous missense variant causes neonatal-onset developmental epileptic encephalopathy, facial dysmorphism, and cerebellar dysgenesis. *Am J Hum Genet* 2018;103(4):631. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.09.002. PMID: 30290155.
4. Simmen T., Aslan J.E., Blagoveshchenskaya A.D. et al. *PACS-2* controls endoplasmic reticulum-mitochondria communication and Bid-mediated apoptosis. *EMBO J* 2005;24(4):717–29. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600559. PMID: 15692567.
5. Youker R.T., Shinde U., Day R. et al. At the crossroads of homeostasis and disease: roles of the *PACS* proteins in membrane traffic and apoptosis. *Biochem J* 2009;421:1–15. DOI: 10.1042/Bj20081016. PMID: 19505291.
6. Perucca P., Perucca E. Identifying mutations in epilepsy genes: Impact on treatment selection. *Epilepsy Res* 2019;152:18–30. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2019.03.001. PMID: 30870728.
7. Dentici M.L., Barresi S., Niceta M. et al. Expanding the clinical spectrum associated with *PACS2* mutations. *Clin Genet* 2019;95(4):525–31. DOI: 10.1111/cge.13516. PMID: 30684285.
8. Zollino M., Seminara L., Orteschi D. et al. The ring 14 syndrome: clinical and molecular definition. *Am J Med Genet A* 2009;149A(6):1116–24. DOI: 10.1002/ajmg.a.32831. PMID: 19441122.
9. Holder J.L.Jr., Lotze T.E., Bacino C., Cheung S.W. A child with an inherited 0.31 Mb microdeletion of chromosome 14q32.33: further delineation of a critical region for the 14q32 deletion syndrome. *Am J Med Genet A* 2012;158A(8):1962–6. DOI: 10.1002/ajmg.a.35289. PMID: 22488736.
10. Helbig I., Lopez-Hernandez T., Shor O. et al. A recurrent missense variant in *AP2M1* impairs clathrin-mediated endocytosis and causes developmental and epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet* 2019;104(6):1060–72. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.04.001. PMID: 31104773.

**Вклад авторов**

Т.В. Маркова: консультирование пациентов;

А.О. Боровиков: написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

Е.Р. Лоzier, А.А. Исаев, Е.А. Померанцева, В.С. Каймонов, Ф.А. Коновалов, О.А. Шагина: получение данных для анализа;

Е.Л. Дадали: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, консультирование пациентов, обзор публикаций по теме статьи.

**Authors' contributions**

T.V. Markova: performed clinical examinations;

A.O. Borovikov: written the manuscript; performed literature analysis;

E.R. Lozier, A.A. Isaev, E.A. Pomerantseva, V.S. Kaimonov, F.A. Konovalov, O.A. Schagina: obtained data for analysis;

E.L. Dadali: revised the manuscript, performed clinical examinations, performed literature analysis.

**ORCID авторов / ORCID authors'**

Т.В. Маркова / T.V. Markova: <https://orcid.org/0000-0002-2672-6294>

А.О. Боровиков / A.O. Borovikov: <https://orcid.org/0000-0001-5871-8005>

Е.Р. Лоzier / E.R. Lozier: <https://orcid.org/0000-0003-2901-0539>

В.С. Каймонов / V.S. Kaimonov: <https://orcid.org/0000-0001-9024-0785>

Ф.А. Коновалов / F.A. Konovalov: <https://orcid.org/0000-0001-6414-436X>

О.А. Шагина / O.A. Schagina: <https://orcid.org/0000-0003-4905-1303>

Е.Л. Дадали / E.L. Dadali: <http://orcid.org/0000-0001-5602-2805>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

**Информированное согласие.** Родители пациента подписали информированное согласие на публикацию его данных.

**Informed consent.** The patient's parents gave written informed consent for the publication of his data.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России на выполнение научно-исследовательской работы в 2020 г.

This work was carried out as part of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia to conduct research work in 2020.

**Статья поступила:** 19.09.2019. **Принята к публикации:** 30.04.2020.

**Article submitted:** 19.09.2019. **Accepted for publication:** 30.04.2020.