



Jüvenil Miyoklonik Epilepside *EFHC1* Geni ile İlişkili Yatkınlık: Türkiye'den İlk Olgu Sunumu

Susceptibility to Juvenile Myoclonic Epilepsy Associated with the EFHC1 Gene: First Case Report in Turkey

© Pınar Bekdik Şirinocak¹, © Barış Salman², © Fatma Yeşim Kesim², © Nerses Bebek¹, © Betül Baykan¹,
© Sibel Aylin Uğur İşeri²

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Öz

Jüvenil miyoklonik epilepsi (JME), miyoklonik nöbetlerin ön planda olduğu, genetik jeneralize epilepsilerin en sık görülen formlarından biridir. JME'de yapılan genetik çalışmalarda *EFHC1* geni ile ilişkili yatkınlık saptanmıştır. Yirmi altı yaşında erkek hasta, 17 yaşında başlamış olan sıçrayıcı karakterde atmalar şeklinde miyoklonik nöbetler ve bir kez tüm vücutta olan tonik-klonik nöbet nedeniyle epilepsi polikliniğimize başvurdu. Nörolojik muayenesi normaldi ve kranial görüntülemelerde bir özellik saptanmadı. Aile öyküsünde bir özellik belirtilmedi. Hastanın tedavi altındaki elektroensefalografisi; hemisferlerin arka yarılarında hafifçe belirgin, kısa süreli, jeneralize, 6-7 Hz frekansında, bazen keskin kontürlü olabilen yavaş dalgaların gözlemlendiği jeneralize tipte paroksizmal bir anormallikle uyumlu olarak yorumlandı. Tüm ekzom dizilemesi yapılarak epilepsi ile ilişkisi bilinen genler incelendiğinde *EFHC1* geninde amino asit değişikliğine yol açan heterozigot formda missens bir varyant tespit edildi [rs137852776 NM_018100.4: c.685T>C;p. 15 (Phe229Leu)]. Olgumuzun halen nöbetleri 1000 mg/gün valproat ile kontrol altında seyretmektedir. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda *EFHC1* gen varyasyonları ailesel geçişli JME'nin saptanabilen en yaygın genetik sebebidir. Biz de kendi çalışmamız kapsamında ilk defa Türkiye'den tipik bir JME olgusunda bir *EFHC1* gen varyasyonunu tespit ettik. Bulgularımız gelecekteki klinik çalışmalar ve JME'de genetik danışmanlık açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Jüvenil miyoklonik epilepsi, *EFHC1* geni, ekzom dizileme, risk faktörü, genetik yatkınlık

Abstract

Juvenile myoclonic epilepsy (JME), characterized by predominating myoclonic seizures, is one of the most common forms of genetic generalized epilepsy. Genetic studies in JME reported susceptibility associated with *EFHC1* gene. A 26-year-old male patient was admitted to our epilepsy outpatient clinic unit with one generalized tonic-clonic seizure and with previous myoclonic seizures started at the age of 17 years described as jerky movements. His neurologic examination and neuroimaging studies were normal. The family history was unremarkable. His electroencephalography was recorded under treatment and showed short-lasting paroxysms consisting of 6-7 Hz generalized slow waves and superimposed sharp contoured waves, slightly prominent over the posterior halves of the hemispheres, interpreted as generalized paroxysmal abnormality. After performing whole exom sequencing and investigating epilepsy-related genes, a heterozygous missense variant was found in *EFHC1* gene causing amino acid change [rs137852776: NM_018100.4: c.685T>C;p. 15 (Phe229Leu)]. His seizures are still under control with valproate 1000 mg/d. Variants in *EFHC1* gene are the most commonly observed genetic abnormalities in patients with familial JME in different countries. Our study reported a *EFHC1* gene variation in a patient typical JME for the first time in our country. Our finding is important for future clinical studies and genetic counseling in JME.

Keywords: Juvenile myoclonic epilepsy, *EFHC1* gene, exom sequencing, risk factor, genetic susceptibility

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Pınar Bekdik Şirinocak, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Tel.: +90 505 313 67 37 E-posta: bekdikpinar@gmail.com ORCID: orcid.org/0000-0002-4644-6572

Geliş Tarihi/Received: 12.01.2019 **Kabul Tarihi/Accepted:** 14.03.2019

©Telif Hakkı 2019 Türk Nöroloji Derneği
Türk Nöroloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

Giriş

Juvenil miyoklonik epilepsi (JME), genetik jeneralize epilepsilerin en sık görülen formudur ve tüm epilepsilerin yaklaşık %5-10'unu oluşturur (1). JME'de nöbetlerin başlangıç yaşı tipik olarak ergenlik döneminde ve JME ile ilişkili nöbetler arasında özellikle sabahın erken saatlerinde uykusuzluğun tetiklediği miyoklonik nöbetler, kliniğe en sık başvuru nedeni olan jeneralize tonik-klonik nöbetler ve olguların 1/3'ünde görülen absans nöbetler sayılabilir (2). Elektroensefalografide (EEG) jeneralize epileptiform bulgular ve tipik olarak çoklu diken, keskin ve yavaş dalgalar gözlenir, fokal paroksizmal bulgular da eşlik edebilir. JME hastaları uygun seçilen tedaviye çoğunlukla iyi yanıt verirler. Tedavi alan bireylerde EEG incelemeleri normal veya non-spesifik bulunabilir.

Aile ve ikiz çalışmaları JME'de genetik faktörlerin önemli rol oynadığını göstermiştir. JME'nin genetik temellerinin açıklanabilmesi için, hem tek veya birkaç majör genin etkili olduğu Mendel tipi kalıtım modeli hem de zayıf etkide ancak çok sayıda genetik ve çevresel etmenin katkı sağladığı kompleks genetik modeller ile öne sürülmüştür. Bu bağlamda JME'nin genetik temelleri, bağlantı analizi, aday genlerin dizilenmesi, ilişkilendirme analizleri ve son yıllarda ekzom ve genomun tamamının dizildiği yeni nesil dizileme yöntemlerini içeren geniş bir yöntem skalasında incelenmiştir (3). Bu çalışmaların sonucunda JME ile ilişkili olabilecek *CACNB4* (calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 4, MIM: 601949), *CASR* (calcium sensing receptor, MIM: 601199), *GABRA1* (gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha 1 subunit, MIM: 137160), *GABRD* (gamma-aminobutyric acid type A receptor delta subunit, MIM: 137163) ve *EFHC1* (EF-hand domain containing 1, MIM: 608815) genleri tanımlanmıştır.

Bunlar arasında bağlantı analizi ile ilk gösterilmiş gen olan ve kromozom 6p12.2 bölgesinde yer alan *EFHC1* geni majör transkripti (ENST00000371068/NM_018100.4) ile 640 amino asitlik kalsiyuma bağlanan myoclonin-1 isimli bir proteini kodlar (ENSEMBL veri tabanı: <https://www.ensembl.org/>). Myoclonin-1 ergen ve yetişkin fare beyinde korteks, hipokampus ve serebellumda sentezlenir (4). Myoclonin-1'in hücre bölünmesinde yapısal görevi olan mikrotübül proteinleri ile ilişkili bir protein olduğu ve patojenik varyasyonların varlığında hücre bölünmesinde mikrotübülere bağlı anomalilere sebep olduğu gösterilmiştir (5). Ayrıca kortikal gelişim sırasında hücre bölünmesinde ve nöronal göçte rol oynadığı bilinmektedir (6).

JME sendromunun epilepsinin yaygın bir türü ve aynı zamanda epilepsi genetik çalışmalarının önemli bir bileşeni olması sebebi ile farklı toplumlarda ilişkili genetik varyantların incelenmesi ve fenotip korelasyonlarının yapılması son derece önemlidir. Biz de bu çalışmamızda tüm ekzom dizileme yöntemi ile *EFHC1* geninde JME ile ilişkili olabilecek genetik bir risk faktörü saptadığımız hastamızı sunmak istiyoruz. Bu tarz çalışmalar epilepside genetik danışmanlık ve koruyucu yaklaşımı gündeme getirmek adına da önemlidir.

Olgu Sunumu

Olgumuz, son incelememiz sırasında 26 yaşında olan bir erkek hastadır. Hastamızda sağ kolda görece ön planda olan sıçrayıcı karakterde atmalar şeklinde miyoklonik nöbetler mevcuttu. Bir

kez de tüm vücutta olan tonik-klonik nöbet nedeniyle epilepsi polikliniğimize başvurdu.

Hastanın özgeçmişinde, zamanında, sorunsuz bir şekilde hastanede doğum öyküsü vardı. Motor ve mental gelişim basamakları normaldi. Başka bir hastalık öyküsü ve ilaç kullanımı yoktu. Sigara kullanım öyküsü yoktu, alkol kullanımı sosyal içici düzeyindeydi. Aile hikayesi ayrıntılı olarak incelendiğinde ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı ve aynı zamanda ailesinde herhangi bir epilepsi öyküsü olmadığı anlaşıldı. Hastamız bize ilk olarak 2010 yılında, 18 yaşındayken ileri terdik ve tedavi amacıyla başvurmuştu. On yedi yaşında başlayan, iki üç ayda bir, özellikle uykusuzluk sonrası sabahları daha sık olan sağ kolda belirgin sıçrayıcı karakterde atmaları oluyormuş. Uykusuz olduğu bir sabah açken, yine sağ kolunda sıçrayıcı atma ve sonrasında 1-3 dakika kadar süren, tüm vücuda yayılan, bilinç kaybının geliştiği bilateral tonik-klonik nöbet geçirmiştir. Nöbet sonrasında yorgunluk hissi olmuştur. Acil olarak götürüldüğü dış merkezde nöroloji hekimi tarafından sodyum valproat 1000 mg/gün başlanmış ve nöbet tekrarı olmamıştır.

Bize başvurusunda yapılan nörolojik muayenesi normaldi. Kraniyal görüntüleme bir özellik saptanmadı. Hastanın tedavi altındaki EEG'si hemisferlerin arka yarılarında belirgin kısa süreli 6-7 Hz frekansında, bazen keskin kontürlü olabilen yavaş dalgaların gözleendiği jeneralize tipte paroksizmal bir anormallikle uyumlu olarak yorumlandı.

Hasta, halen İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Kliniği, Epilepsi Polikliniği olarak tarafımızca takip edilmekte ve şu an hastanın nöbetleri kontrol altında seyretmektedir.

Genetik Araştırmalar ve Bulgular

Hastamızdan aydınlatılmış onamı doğrultusunda periferik kan örneği alınmış ve bu örnekten DNA izole edilerek İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü bünyesinde bankalanmıştır. Bu DNA örneğinin, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan uluslararası proje kapsamında Epi25 konsorsiyumu tarafından ekzom dizilemesi yapılmıştır. Ekzom dizileme ham verisinin analizi, Epi25 takımı tarafından gerçekleştirilmiştir. Protokol kapsamında genetik ileri analizler için tarafımıza gönderilen varyant çağırma dosyalarının gen, protein, frekans ve fenotip düzeylerinde anlamlandırılmaları Ensembl-Variant Effect Provider kullanılarak yapılmıştır (7). Epilepsi ile ilişkisi bilinen genler incelendiğinde bu hastada *EFHC1* geninde amino asit değişikliğine yol açan heterozigot formda missense bir varyant tespit edilmiştir [rs137852776: NM_018100.4:c.685T>C;p.(Phe229Leu)]. Hastamız saptanan bu genetik özellik açısından uygun şekilde bilgilendirilmiştir.

Tartışma

EFHC1 gen varyasyonları miyoklonik ve tonik-klonik nöbetlerle seyreden ailesel geçişli JME'nin saptanabilen en yaygın genetik sebebidir. Bu genin 2004'te ilk defa JME ile ilişkilendirilmesinden beri farklı toplumlarda pek çok ailesel veya sporadik *EFHC1* varyasyonu tespit edilmiştir. 2017 yılına ait retrospektif bir çalışmada, bilinen tüm *EFHC1* varyasyonları ve tespit edildikleri toplum ve aile yapıları özetlenmiştir (8). Amerika kıtasından, Avrupa'ya oradan Japonya'ya uzanan geniş bir coğrafyada JME ile ilişkili *EFHC1* varyasyonlarına rastlandığı

bu çalışma ile görülebilir. Biz de kendi çalışmamız kapsamında ilk defa Türkiye'den bir JME olgusunda bir *EFHC1* varyasyonunu tespit ettik ve klinik analizi ile birlikte sunmaya uygun bulduk. Çalışmamızda saptanan varyasyonun gnomAD veri tabanında %0,1 ile %0,8 arası değişen sıklıklarla, farklı popülasyonlardan kontrol bireylerinde bulunduğu görülmektedir (<http://gnomad.broadinstitute.org>; rs137852776). Ancak bu varyasyonun fenotip penetransının tam olmadığı daha önce yapılan aile segregasyon çalışmalarında gösterilmiş ve sağlıklı aile üyelerinin de hasta akrabaları gibi bu varyasyonu taşıyabildiği saptanmıştır (9). Yukarıda bahsi geçen retrospektif çalışmada aynı zamanda tüm *EFHC1* varyasyonları yeniden analiz edilerek klinik patojenite açısından sınıflandırılmıştır (8). Bu sınıflandırma için klinik olarak 'normal' gözükken kişiler için EEG bulgusu da penetrans faktörünün değerlendirilmesi esnasında hesaba katılmıştır. Bu bakış açısı ile NM_018100.4:c.685T>C;p.(Phe229Leu) varyantının penetrans değerinin belirgin olarak yükseldiği hatta bir ailede tam penetrant olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışma kapsamında toplam 54 *EFHC1* varyasyonunu değerlendirilmiştir. NM_018100.4:c.685T>C;p.(Phe229Leu) de dahil olmak üzere bu varyasyonlardan 9 tanesi patojenik olarak sınıflandırılmıştır. *EFHC1* geninde yer alan ve JME ile ilişkili varyasyonların bazı toplumlarda tolere edilebileceği de öne sürülmüştür (10). Dolayısı ile bu varyasyon şu anki verilerle JME için bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (ClinVar veri tabanı: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>; rs137852776). *In vitro* çalışmalarda bu varyasyon ile üretilen proteinin *EFHC1* fonksiyonunu bozduğu gözlenmiştir (9). Tüm bu bilgiler ışığında bir bireyde heterozigot formda bulunan rs137852776 varyantının, bu bireyin iki *EFHC1* gen allelinden tekini bozacağı düşünülebilir. Diğer allelden sentezlenen normal proteinin düzeyinin o birey için yeterli olup olmamasına bağlı olarak JME kendini gösterecektir. Ayrıca hücre bölünmesinde görevli yapısal bir proteinin farklı genetik altyapıları olan bireylerin beyin dokusunda nasıl bir etki göstereceğini öngörmek; salt varyasyonun varlığını inceleyerek oldukça zor olabilir. Dolayısı ile klinik açıdan iyi karakterize edilmiş, uzun vadeye yayılan takip ve tedavi programları uygulanan JME tanılı bireylerin *EFHC1* gen varyasyonları açısından farklı toplumlarda incelenmesi son derece önemlidir.

EFHC1'nin biyolojik rolleri çeşitlilik göstermektedir. *EFHC1*, voltaja bağlı Cav2.3 kanal aktiviteyi ile etkileşim yoluyla apoptozis ile ilişkiliyken, mikrotübüller ile ilişkili olarak kortikal gelişim sırasında nöronal migrasyona ve apoptozise aracılık etmek için redoks-duyarlı TRPM2 kanalı ile etkileşim gösterir (6,9,11). JME hastalarında kortikal morfolojide değişiklikler ve artmış serebral korteks kalınlığı bildirilmiştir (12,13). Talamokortikal ağlardaki yapısal değişikliğin artmış JME riskiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (14). Bu nedenle, JME'nin etyopatogenezinde nöronal migrasyon ve nöronal bağlanmayı onaylayan mikrotübüler dinamikleri düzenleyen genler üzerinde durulmaktadır (5). *EFHC1*, hücre bölünmesi ve gelişim sırasında nöronal göçün düzenlenmesinde çok önemli olan yeni bir mikrotübül asosiyasyon proteindir. Buna göre, JME tanılı bireylerde mikrodisjenezin radyal nöronal göç defektlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kortikal olgunlaşma sırasında, bu bozukluklar ergenlik başlangıcında JME'den sorumlu olacak anormal epileptojenik devreye yol açabilir (15).

EFHC1, farklı toplumlarda JME ile ilişkilendirilmiştir ve epilepsi ile ilişkili çoğu genin aksine bir iyon kanalı proteinini kodlamamaktadır. *EFHC1* bu yönüyle JME'nin fizyopatolojisine ve genel olarak genetik epilepsilere yeni bir bakış açısı getirerek epilepsilerin iyon kanalopatileri ile sınırlı olmadığına dikkat çekmiştir. Bu nedenle *EFHC1*'in keşfi, genetik jeneralize epilepsiye neden olan klasik kanalopati teorisinin yanı sıra, JME'nin nöro-gelişimsel bir hastalık olduğu fikrini desteklemektedir (2,15). Epileptik bozukluklarının çok faktörlü etiyolojileri, potansiyel olarak nedensel genlerin rollerinin coğrafi olarak farklı popülasyonlarda dikkatle incelenmesini gerektirmektedir.

Sonuç olarak, farklı coğrafi bölgelerde JME hastalarında saptanan bu önemli heterozigot risk faktörü genetik analizlerde araştırılmaya değerdir. Ülkemizde de var olduğunun belirlenmesi koruyucu hekimlik ve danışmanlık açısından önem taşımaktadır.

Teşekkürler

Çalışmaya katkıları için Epi25 konsorsiyumuna ve olgumuza teşekkür ederiz.

Etik

Hasta Onayı: Çalışmamıza dahil edilen hastadan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: P.B.Ş., N.B., B.B., Konsept: N.B., B.B., S.A.U.İ., Dizayn: P.B.Ş., B.S., F.Y.K., S.A.U.İ., N.B., B.B., Veri Toplama veya İşleme: P.B.Ş., B.S., F.Y.K., S.A.U.İ., B.B., Analiz veya Yorumlama: P.B.Ş., B.S., S.A.U.İ., B.B., Literatür Arama: P.B.Ş., S.A.U.İ., B.B., Yazan: P.B.Ş., B.S., S.A.U.İ., B.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Bu proje TÜBİTAK 113S331 projesi kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Thomas RH, Berkovic SE. The hidden genetics of epilepsy - a clinically important new paradigm. *Nat Rev Neurol* 2014;10:283-292.
2. Baykan B, Wolf P. Juvenile myoclonic epilepsy as a spectrum disorder: A focused review. *Seizure* 2017;49:36-41.
3. Santos BPD, Marinho CRM, Marques TEBS, et al. Genetic susceptibility in Juvenile Myoclonic Epilepsy: Systematic review of genetic association studies. *PLoS One* 2017;12:e0179629.
4. Léon C, de Nijs L, Chanas G, et al. Distribution of *EFHC1* or Myoclonin 1 in mouse neural structures. *Epilepsy Res* 2010;4272:196-207.
5. Raju PK, Satishchandra P, Nayak S, et al. Microtubule-associated defects caused by *EFHC1* mutations in juvenile myoclonic epilepsy. *Hum Mutat* 2017;38:816-826.
6. de Nijs L, Léon C, Nguyen L, et al. *EFHC1* interacts with microtubules to regulate cell division and cortical development. *Nat Neurosci* 2009;12:1266-1274.
7. Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinformatics* 2013;43:1-33.
8. Bailey JN, Patterson C, de Nijs L, et al. *EFHC1* variants in juvenile myoclonic epilepsy: reanalysis according to NHGRI and ACMG guidelines for assigning disease causality. *Genet Med* 2017;19:144-156.
9. Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, et al. Mutations in *EFHC1* cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2004;36:842-849.

10. Subaran RL, Conte JM, Stewart WC, Greenberg DA. Pathogenic *EFHC1* mutations are tolerated in healthy individuals dependent on reported ancestry. *Epilepsia* 2015;56:188-194.
11. Cossette P, Liu L, Brisebois K, et al. Mutation of *GABRA1* in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2002;31:184-189.
12. Wandschneider B, Thompson PJ, Vollmar C, Koepp MJ. Frontal lobe function and structure in juvenile myoclonic epilepsy: a comprehensive review of neuropsychological and imaging data. *Epilepsia* 2012;53:2091-2098.
13. Ronan L, Alhusaini S, Scanlon C, et al. Wide spread cortical morphologic changes in juvenile myoclonic epilepsy: Evidence from structural MRI. *Epilepsia* 2012;53:651-658.
14. Alhusaini S, Ronan L, Scanlon C, et al. Regional increase of cerebral cortex thickness in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2013;54:e138-141.
15. de Nijs L, Wolkoff N, Grisar T, Lakaye B. Juvenile myoclonic epilepsy as a possible neurodevelopmental disease: Role of *EFHC1* or Myoclonin1. *Epilepsy Behav* 2013;28:58-60.