



## **Convulsioni Neonatali Benigne Familiari da mutazione di KCNQ2**

Thomas Foiadelli<sup>1</sup>, Lorenzo Andrea Bassi<sup>1</sup>, Tiziana Boggini<sup>1</sup>, Luca Bosa<sup>1</sup>,  
Federico Cattaneo<sup>1</sup>, Valentina Domenech<sup>1</sup>, Chiara Gagliardone<sup>1</sup>,  
Roberta Maragliano<sup>1</sup>, Amelia Mascolo<sup>1</sup>, Giovanni Pieri<sup>1</sup>, Rossella Porto<sup>1</sup>,  
Giulia Rossetti<sup>1</sup>, Salvatore Savasta<sup>1</sup>, Orsetta Zuffardi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, e*  
<sup>2</sup>*Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia*

---

### ***Convulsioni Neonatali Benigne Familiari da mutazione di KCNQ2***

Le Convulsioni Neonatali Benigne Familiari sono un raro disordine convulsivo ad ereditarietà AD che si manifesta entro la seconda settimana di vita. Ad oggi sono stati identificati 2 geni responsabili: KCNQ2 e KCNQ3. Riportiamo il caso di F.G., ricoverata per convulsioni neonatali insorte in terza giornata di vita, refrattarie alla terapia antiepilettica. Nella storia clinica del padre emergeva identica sintomatologia (fino al 25° giorno di vita); inoltre, due cugine paterne risultavano affette da differenti disordini comiziali. Anche nel caso di F.G. si verificava una completa risoluzione delle manifestazioni comiziali al compimento del 25° giorno di vita. Ad oggi la bambina (6 mesi di vita) presenta un normale sviluppo psico-motorio. L'analisi genetica Next Generation Sequencing ha potuto evidenziare nella bambina e nel padre una mutazione del gene KCNQ2, a livello dell'esone 5: C.769del. Tale mutazione comporta un frameshift della sequenza codificante con STOP codon prematuro 15 codoni a valle.

### ***Benign Familial Neonatal Seizures due to KCNQ2 mutation***

Benign Familial Neonatal Seizures (BFNS) is a rare autosomal dominant epilepsy syndrome occurring within 2nd week of life. Up to now, two disease-related genes have been identified: KCNQ2 and KCNQ3. We describe the case of F.G., hospitalized for neonatal seizures occurring in day 3 of life and refractory to appropriate anti-epileptic treatment. A similar epileptic disorder was reported in her father's medical history (until day 25 of life); moreover, two of her father's first cousins resulted to be affected by different epileptic disorders. Along with the family history, we attended the complete resolution of the epileptic manifestations on day 25 of life. So far, F.G. is 6-month-old and does not show any developmental delay. A Next Generation Sequencing genetic analysis identified a mutation in exon 5 of the KNCQ2-gene in both F.G. and her father: C.769del. The mutation is likely to be responsible for a frameshift of the codifying sequence with premature STOP codon 15 codons downstream.

---

## Introduzione

Le convulsioni neonatali esprimono, in genere, un serio interessamento neurologico: è necessario pertanto pervenire rapidamente a una loro interpretazione per instaurare, ove possibile, il trattamento più adeguato. Il 60% delle convulsioni neonatali riconosce come causa un'emorragia o una sofferenza cerebrale ipossico-ischemica da insulto perinatale acuto; altre cause note sono: meningite batterica o virale, stroke neonatale, diselettrolitemie, anomalie del metabolismo, malformazioni cerebrali e intossicazioni esogene. Un'attenta anamnesi ostetrico-materna, un accurato rilievo obiettivo del neonato ed esami ematochimici mirati, unitamente allo studio con neuroimmagini (ecografia e RMN cerebrali) consentono nella maggior parte dei casi di formulare rapidamente una diagnosi eziologica. Tra le convulsioni neonatali senza causa evidente, vanno infine considerate due sindromi convulsive benigne neonatali (familiari e non) e due forme precoci di encefalopatia epilettica (la sindrome di Ohtahara e l'encefalopatia mioclonica precoce) [1].

Le Convulsioni Neonatali Benigne Familiari (Benign Familial Neonatal Seizures, BFNS) sono un raro disordine convulsivo ad ereditarietà autosomica dominante che si manifesta in un periodo compreso tra il primo giorno e la seconda settimana di vita, caratterizzato da convulsioni di tipo prevalentemente tonico, generalizzate o multifocali, talvolta seguite da anomalie cloniche e/o autonome di vario tipo, mono- o bilaterali, spesso associate a brevi apnee. L'EEG intercritico è normale e le crisi tendono a regredire spontaneamente nel giro di qualche settimana, anche senza il ricorso a farmaci antiepilettici. Alcuni studi riportano tassi di recidiva epilettica nel corso della vita pari al 15%, soprattutto in età scolare o adolescenziale: tali crisi tendono comunque ad essere sporadiche e scatenate da precisi fattori situazionali (come la fotostimolazione o la privazione di sonno) [2-3].

L'entità clinica delle BFNS fu descritta per la prima volta nel 1964 dal pediatra austriaco Andreas Rett, e nel 1998 ne furono identificati due geni responsabili: KCNQ2 (20q13.3) e KCNQ3 (8q24). Entrambi i geni sono ampiamente espressi nel sistema nervoso centrale e codificano per i canali del  $K^+$  voltaggio-dipendenti Kv7.2 e Kv7.3, responsabili della M-current: una conduttanza lentamente attivante e non inattivante del potassio in grado di inibire l'eccitabilità neuronale. Mutazioni a carico di KCNQ2 e KCNQ3 sono identificabili nel 60-70% dei pazienti affetti da BFNS (ma il 90% delle mutazioni riguarda il gene KCNQ2). In particolare, alcuni studi condotti su roditori attribuiscono alla peculiare posizione dei canali KCNQ2 (in corrispondenza delle zone di generazione dei potenziali d'azione: assone prossimale e nodi di Ranvier) la loro potente azione neuro-depressiva, specialmente in età neonatale: farmaci in grado di mantenere aperti i canali KCNQ2 (come la Flupirtina) sono infatti incredibilmente efficaci nel trattamento delle convulsioni neonatali farmaco-indotte nei ratti da laboratorio [4-5]. Mutazioni a carico di KCNQ2 non sono tuttavia specifiche per BFNS: negli ultimi anni sono stati segnalati alcuni casi di encefalopatia epilettica neonatale correlata a mutazioni di KCNQ2 [3], miocimia associata a epilessia infantile precoce [6], ipereccitabilità neuronale periferica senza epilessia nota [7], nonché una relazione tra mutazioni di tale gene ed epilessia benigna dell'infanzia con punte centro temporali [8].

## Caso clinico

Riportiamo qui il caso di F.G., nata da taglio cesareo per mancata progressione alla 39° settimana di gravidanza complicata da ipertensione materna e ipotiroidismo correttamente trattati. Peso alla nascita: 2,690 g; Apgar a 1 e 5 minuti: 10. In terza giornata di vita, la piccola veniva da noi trasferita da altro Centro per l'insorgenza di convulsioni neonatali generalizzate di tipo tonico-clonico e focali toniche.

Le crisi apparivano stereotipate, di breve durata, spontaneamente risolutive, caratterizzate da fissità dello sguardo, automatismi masticatori, desaturazione, clonie e contrazioni toniche ai quattro arti, non responsive alla terapia anticomiziale di prima, seconda e terza linea. All'esame obiettivo erano evidenti: irritabilità, ipotonia di grado lieve, ROT e riflessi neonatali presenti e simmetrici.

Durante la degenza G. è stata sottoposta ad esami ematochimici e colturali che non hanno evidenziato patologie infettive o dismetaboliche in atto. L'ecografia trans-fontanellare non rilevava fenomeni emorragici, né malformazioni cerebrali. Ripetuti EEG intercritici mostravano discreta strutturazione dell'attività di base, con diffuse bouffées di attività irritativa bilateralmente, senza marcata asimmetria di lato, né anomalie focali; gli EEG critici evidenziavano sequenze di spike waves sulle regioni anteriori di entrambi gli emisferi. A 16 giorni di vita la piccola è stata sottoposta a RMN encefalo che non riscontrava alterazioni a carico del parenchima e del sistema ventricolare, salvo un focale aspecifico ispessimento della corteccia cerebrale in sede parietale destra, sospetto per displasia corticale, meritevole di controllo al termine del processo di mielinizzazione.

Da un'anamnesi approfondita è emerso che il padre della piccola aveva manifestato una simile sintomatologia in età neonatale, con completa risoluzione al venticinquesimo giorno di vita; inoltre, due cugine del padre (di primo grado) risultavano affette da disordini comiziali (Figura 1): la prima aveva manifestato un episodio di convulsioni febbrili di tipo tonico-clonico generalizzate tra il secondo e il terzo mese di vita; la seconda, invece, convulsioni tonico-cloniche dai primi mesi di vita fino all'età di 10 anni circa. Nel nostro caso, analogamente a quanto verificatosi nel padre, al compimento del venticinquesimo giorno di vita si assisteva ad una completa risoluzione delle manifestazioni comiziali.

Attualmente la piccola, all'età di 6 mesi di vita, presenta un normale sviluppo psico-motorio.

### ***Indagini genetiche***

L'analisi Next Generation Sequencing (Illumina GAIIX), mediante l'utilizzo di una piattaforma contenente gli esoni e le giunzioni introne-esone di 106 geni associati a epilessia, ha potuto evidenziare nella bambina e nel padre una mutazione del gene KCNQ2 a livello dell'esone 5: NM\_004518.4:C.769del (cDNA), definita anche Chr20(GRCh37):g.62073806del a livello genomico e p.Glu257Arg a livello proteico (Figure 2 e 3). Secondo i tools di predizione utilizzati [Alamut (versione 2.1), Mutation Taster (URL: <http://www.mutationtaster.org/>) e SIFT (URL: <http://blocks.fhcrc.org/sift/SIFT.html>)] la mutazione, che consiste nella delezione di 1 bp, porta al frameshift della sequenza codificante a partire dal codone Glu257: il nuovo reading frame termina in uno STOP codon prematuro 15 codoni a valle della mutazione, con conseguente possibile degradazione del relativo mRNA attraverso un meccanismo di Nonsense-Mediated Decay (Figura 4). La mutazione in esame cade in una zona altamente conservata a livello proteico nelle diverse specie animali, non solo mammifere, come illustrato in figura 5.

La ricerca della mutazione è stata quindi estesa ad altri familiari, affetti e non affetti: il gene KCNQ2 mutato è risultato presente in una delle due cugine paterne (mentre l'altra ha scelto di non sottoporsi a indagini genetiche). La ricerca della mutazione nella nonna paterna è tuttora in corso (Figura 1).

### **Discussione**

Le Convulsioni Neonatali Benigne Familiari sono un disordine convulsivo raro, che entra nella diagnostica differenziale delle convulsioni neonatali, in particolare, qualora gli esami di laboratorio e strumentali abbiano di fatto escluso ogni possibile fattore eziologico sottostante. Si tratta di una patologia su base genetica clinicamente autolimitante la cui prognosi è ottima, al contrario di quasi tutte le

restanti cause di convulsioni neonatali: l'importanza di una diagnosi tempestiva è quindi principalmente prognostica. La presentazione clinica ed elettrofisiologica è peculiare, ma non specifica; un'anamnesi familiare approfondita può, invece, essere determinante nell'evocare una diagnosi di BNFS, dato che tale disordine si trasmette con ereditarietà autosomica dominante a penetranza pressoché completa ed espressività variabile. Indagini genetiche mirate, con ricerca di mutazioni a carico dei geni KCNQ2 e KCNQ3, possono confermare la diagnosi in presenza di un quadro clinico compatibile. La peculiarità del nostro caso consiste nella straordinaria sovrapposizione fenotipica tra padre e figlia, le cui crisi sono cessate spontaneamente e definitivamente al compimento del venticinquesimo giorno di vita. L'espressione clinica delle crisi era tipica: crisi multifocali toniche di breve durata, farmacoresistenti, con componente clonica agli arti bilateralmente, perdita di contatto, movimenti masticatori ed apnee. Gli EEG intercritici erano normali, mentre evidenziavano onde aguzze bilaterali nei periodi critici, senza burst-suppression. Le indagini genetiche effettuate sulla paziente ed i familiari hanno permesso di individuare la mutazione responsabile, consistente in una microdelezione a carico di KCNQ2. La mutazione colpiva una regione molto conservata del gene, corrispondente a livello proteico al P loop compreso tra le subunità S5 ed S6: porzione strategica del canale KCNQ2 in quanto responsabile della permeabilità del poro stesso agli ioni  $K^+$ .

La medesima mutazione (c.769del) è stata identificata nella figlia, nel padre e in una cugina paterna. Non è stato possibile estendere le analisi genetiche alla seconda cugina paterna, nonostante la positività anamnesticca per disordini convulsivi in età precoce. Restiamo altresì in attesa dell'esito delle indagini genetiche relative alla nonna paterna: nonostante l'impossibilità di ricostruire un'accurata anamnesi neonatale atta a investigare la presenza di convulsioni nei primi giorni di vita, data la particolarità dell'albero genealogico familiare riteniamo in ogni caso verosimile che la mutazione c.769del sia stata da lei stessa tramandata al padre della piccola F.G., e che a sua volta la nonna abbia ereditato la mutazione da uno dei suoi genitori (il bis-nonno o la bis-nonna di F.G.). Tale segregazione in pazienti per altro sani conferma ancora una volta l'assoluta benignità di tale patologia, che si manifesta esclusivamente in età precocissima e senza alcuna alterazione dello sviluppo psico-fisico degli affetti.

Un'ultima considerazione scaturisce dallo studio dell'albero genealogico familiare: come affermato in letteratura, infatti, una stessa mutazione a carico di KCNQ2 può manifestarsi con espressività variabile e fenotipi clinici differenti; questo spiegherebbe l'ampio spettro fenotipico presente nei diversi affetti della famiglia di F.G.. È plausibile che il fenotipo clinico possa essere influenzato da numerosi fattori ambientali, genetici ed epigenetici, indipendentemente dal tipo di mutazione. In ogni caso, nessuno dei casi qui analizzati manifestava il fenotipo encefalopatico, caratterizzato da epilessia refrattaria e regressione psico-motoria, recentemente descritto in associazione a mutazioni di KCNQ2 (si tratta per altro, quasi sempre, di mutazioni de novo), né rientrava in un quadro di epilessia a punte centro-temporali.

## **Tabelle e figure**

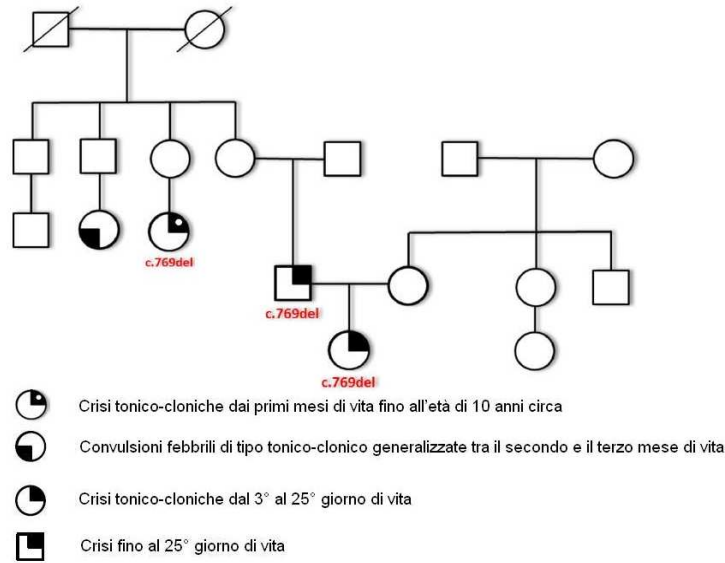


Figura 1. Albero genealogico della probanda.

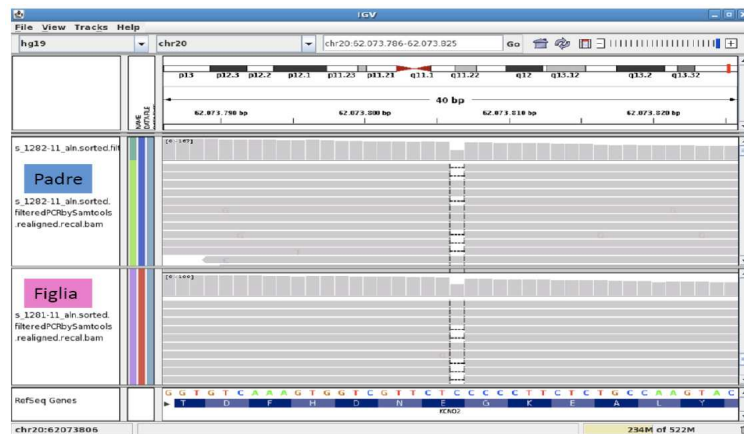


Figura 2. Integrative Genomics Viewer (<http://www.broadinstitute.org/igv>). Assembly hg19. Gene KCNQ2: delezione di C in posizione 769, nel padre e nella figlia.

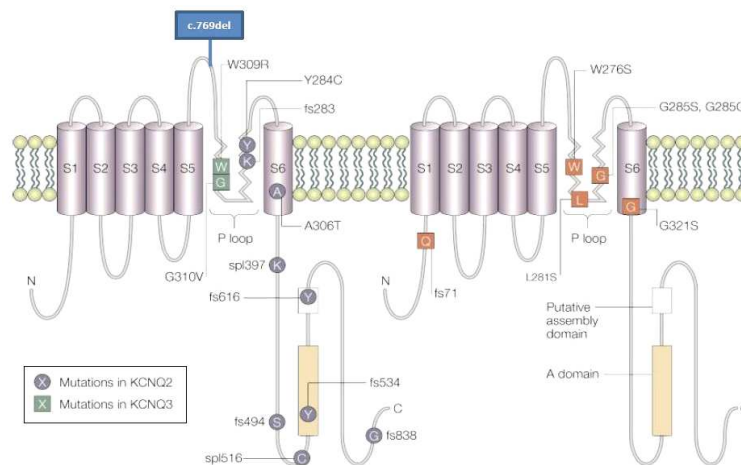


Figura 3. Struttura dei canali KCNQ2 e principali mutazioni causative di Convulsioni Neonatali Benigne Familiari: la mutazione c.769del coinvolge la porzione iniziale del P-loop tra le subunità S5 e S6.

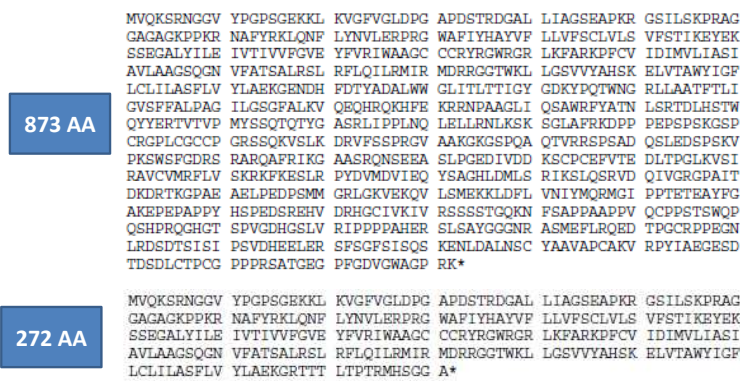


Figura 4. Sequenza aminoacidica del canale KCNQ2 wildtype (in alto) e KCNQ2 mutato a livello di Glu257 (in basso).

conservation protein level for non-synonymous changes	species	match	gene	aa alignment
	Human			257 ASFLVYLAEKCEVDHFDPTYADALWGLITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Human	mutated		n/a
	Chimp	partly conserved	<a href="#">ENSPTRG0000013736</a>	235 ASFLVYLAEKCEVDHFDPTYADALWGLITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Rhesus	partly conserved	<a href="#">ENSMMLG0000015918</a>	238 VVVVVVMQVTPVRLVPGSLKEDPLEWEIITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Cat	partly conserved	<a href="#">ENSFCAG0000008923</a>	158 XXFLVY - AEKCEVDHFDPTYADALWGLITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Mouse	partly conserved	<a href="#">ENSMUS0000016346</a>	257 ASFLVYLAEKCEVDHFDPTYADALWGLITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Chicken	partly conserved	<a href="#">ENSGALG0000005822</a>	257 ASFLVYLAEKCEVDHFDPTYADALWGLITLTTIGYGDKYPQTWNGRLLA
	Xenopus	no homologue		
	Zebrafish	no homologue		
	Fugu	no homologue		
	Elegans	partly conserved	<a href="#">C25B8.1</a>	314 NTDKYQTFADALWGWGITLSTVGYGDKTPTWPKIIA
	Drosophila	partly conserved	<a href="#">FBgn0033494</a>	238 ASFLVYMWEKLVVDFSNPAQALWGWGITLCTVGYGDMVPIWQKGLIA

Figura 5. Conservazione a livello proteico, nelle diverse specie animali, dell'aminoacido coinvolto nella mutazione c.769del.

## Bibliografia

1. Tiberti A, Ometto A. Neonato con manifestazioni convulsive. In: *Pediatria Essenziale, Edi-Ermes*, Milano, Italia, 2012.
2. Steinlein OK, Conrad C, Weidner B et al. Benign familial neonatal convulsions: always benign? *Epilepsy Res* 2007;73(3):245-249.
3. Weckhuysen S, Mandelstam S, Suls A et al. KCNQ2 encephalopathy: emerging phenotype of a neonatal epileptic encephalopathy. *Ann Neurol* 2012;71(1):15-25.
4. Raol YH, Lapidus DA, Keating JG et al. A KCNQ Channel Opener for Experimental Neonatal Seizures and Status Epilepticus. *Ann Neurol* 2009;65:326-336.
5. Singh NA, Otto JF, Dahle EJ et al. Mouse models of human KCNQ2 and KCNQ3 mutations for benign familial neonatal convulsions show seizures and neuronal plasticity without synaptic reorganization. *J Physiol* 2008;586(14):3405-3423.
6. Zhou X, Ma A, Liu X et al. Infantile seizures and other epileptic phenotypes in a Chinese family with a missense mutation of KCNQ2. *Eur J Pediatr* 2006;165:691-695.
7. Wuttke TV, Jurkat-Rott K, Paulus W et al. Peripheral nerve hyper- excitability due to dominant-negative KCNQ2 mutations. *Neurology* 2007;69:2045-2053.
8. Ishii A, Miyajima T, Kurahashi H et al. KCNQ2 abnormality in BECTS: Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes following benign neonatal seizures resulting from a mutation of KCNQ2. *Epilepsy Res* 2012;102(1-2):122-125.