

Julia Pavlovic¹, Jean Marc Nuoffer², André Schaller³, Johannes Slotboom⁴, Taria Loennfors⁴ und Maja Steinlin¹
¹Abteilungen für Neuropädiatrie, ²Stoffwechselkrankheiten, ³Humangenetik und ⁴Institut für diagnostische und interventionelle Neuroradiologie, Inselspital Bern

Zusammenfassung

In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich bei einer Blitz-Nick-Salaam (BNS)-Epilepsie um eine symptomatische Erkrankung, die als Folge einer Hirnmissbildung oder einer frühen Hirnschädigung auftritt.

Wir berichten von einem Säugling, der sich mit einer BNS-Epilepsie präsentierte und bei dem man als zugrunde liegende Erkrankung eine Mitochondriopathie biochemisch und genetisch verifizieren konnte. Es handelte sich dabei um einen Knaben nicht blutsverwandter Eltern, der sich in den ersten 6 Lebensmonaten mit einer typischen BNS-Epilepsie und einer Hypsarrhythmie im EEG vorstellte. Weitere Abklärungen zeigten erhöhte Laktatwerte in Serum und Liquor, sowie einen erhöhten Laktat-Peak in der Magnetresonanztomographie, während das MRI unauffällig war. Biochemisch fand sich ein Komplex V-Mangel und genetisch eine Punktmutation im MT-ATP6-Gen mit einer Heteroplasmie von 85%. Die Behandlung mit Vigabatrin und Topiramaten führte im weiteren Verlauf zu einer guten Kontrolle der Krampfanfälle sowie einer nahezu vollständigen Normalisierung des EEGs, wobei sich zunehmend ein psychomotorischer Entwicklungsrückstand manifestierte.

Anhand dieses Fallbeispiels lässt sich demonstrieren, wie wichtig es ist, genetische Erkrankungen bei Kindern mit Epilepsien zu suchen, auch wenn diese selten sind. Bei diesem Patienten konnte anhand funktionseller, biochemischer und genetischer Analysen die Ursache der BNS-Epilepsie geklärt werden. Die Diagnosestellung hat weitreichende Konsequenzen für die weitere Betreuung des Kindes und den Verlauf der Erkrankung sowie für die Familie, da eine genetische Beratung dieser jungen Eltern indiziert ist.

Epileptologie 2006; 23: 66 – 70

Schlüsselwörter: BNS-Epilepsie, Mitochondriopathie, Komplex V-Mangel, MT-ATP6-Gen

Les spasmes infantiles en tant que première manifestation d'un trouble mitochondrial

L'épilepsie de Blitz-Nick-Salaam est généralement une maladie symptomatique qui survient à la suite de malformations cérébrales ou d'une lésion cérébrale précoce.

Nous présentons le cas d'un nourrisson avec une épilepsie BNS chez lequel on a pu vérifier par voie biochimique et génétique la présence d'une mitochondriopathie sous-jacente. Il s'agissait d'un garçon de parents non consanguins qui a présenté au cours des 6 premiers mois de sa vie une épilepsie BNS typique et une hypsarrhythmie dans son EEG. Des investigations plus poussées ont révélé des taux de lactate trop élevés dans le sérum et le liquide, ainsi qu'un pic de lactate trop élevé à la spectroscopie par résonance magnétique, tandis que l'IRM n'a révélé rien de suspect. L'analyse biochimique a mis à jour une déficience dans le complexe V et l'examen génétique une mutation ponctuelle sur le gène MT-ATP6 avec une hétéroplasmie de 85%. Le traitement à base de vigabatrine et topiramate a permis par la suite de bien contrôler les spasmes et d'obtenir un EEG quasi-normal, même si le développement psychomoteur a pris de plus en plus de retard.

Ce cas de figure illustre combien il est important de soupçonner des maladies génétiques chez les enfants avec des épilepsies, même si elles sont rares. Chez le patient en question, les origines de l'épilepsie BNS ont pu être éclairées à l'appui d'analyses fonctionnelles, biochimiques et génétiques. La pose du diagnostic a un très grand impact sur l'encadrement futur de l'enfant et l'évolution de la maladie, ainsi que sur la famille, car un conseil génétique est indiqué pour les jeunes parents dans cette situation.

Mots clés : Epilepsie BNS, mitochondriopathie, déficience dans le complexe V, gène MT-ATP6

BNS-Epilepsy as First Symptom of a Mitochondriopathy

In the majority of cases infantile spasms are a symptomatic disorder due to brain malformation or early brain damage. We report a little boy, who presented with infantile spasm where an underlying mitochondrial disorder could be confirmed by biochemical and genetical analyses.

This is the first boy of non consanguineous parents,

who presented at age of 6 months with typical infantile spasm and hypersarrythmia in EEG. Further work up revealed elevated lactate levels in blood, cerebrospinal fluid and an elevated lactate peak in magnetic resonance spectroscopy. Magnetic resonance imaging was normal. Biochemically a mitochondrial complex V deficiency was present, and genetically a point mutation in the MT-ATP6 gene could be detected with heteroplasma of 85% in lymphocytes. Short term follow up with treatment of vigabatrine and topiramate showed yet a favourable course with well controlled seizures and no hypersarrythmia in EEG, but already a more prominent psychomotor delay.

This boy is an example for the importance to look for genetic disorders in the work up of children with seizures. Although rare, the aetiology for the infantile spasms could be detected by functional, biochemical and genetical analysis of the mitochondria. This diagnosis has imminent consequences as well for the care of this child, as for the prognosis and the genetic counselling of these young parents.

Key words: BNS-Epilepsy, mitochondriopathy, complex V deficiency, MT-ATP6-gene



Abbildung 1: Spontanes Wach-EEG des Patienten am Aufnahmetag; Ableitungsform: Bipolar; Längsreihen

Einleitung

Die BNS-Epilepsie ist eine klassische Form der Epilepsie des Säuglingsalters, mit einem Beginn zwischen dem 4.-9. Monat. Die Inzidenz liegt bei 0,16-0,42/auf 100'000 Lebendgeburten [1], Jungen sind etwas häufiger betroffen als Mädchen. Im EEG zeigt sich ein spezifisches Muster mit generalisierten Wellen hoher Amplitude und Spikes, der so genannten Hypsarrythmie. Die BNS-Epilepsie ist häufig symptomatisch (70-96%) [2] und seltener kryptogen oder idiopathisch. Die ätiologische Abklärung ist komplex und umfasst neben kortikalen Malformationen, Phakomatosen, Hirnfehlbildungen, hypoxisch-ischämischen Enzephalopathien, angeborenen Infektionen auch Chromosomenanomalien und selten angeborene Stoffwechselerkrankungen. Wir berichten von einem Jungen mit BNS-Epilepsie, bei dem als Ursache eine mitochondriale Erkrankung mit verminderter Aktivität des Komplex V der Atmungskette gefunden wurde. Genetisch konnte dies auf eine Mutation im mitochondrialen Genom zurückgeführt werden.

Fallbeschreibung

Mit 6 Monaten wurde unser Patient erstmals auf der pädiatrischen Notfallstation wegen rezidivierender Episoden mit Flexionsbewegungen und Zittern der Arme sowie Fausten der Hände vorgestellt. Die Episoden waren eine Woche zuvor das erste Mal aufgetreten, dauerten zwischen Sekunden und Minuten; nach den Episoden war der Knabe „unleidig“. Im internistischen Untersuchungsstatus fanden sich keine Auffälligkeiten; Gewicht, Länge und Kopfumfang lagen innerhalb der Perzentilen. Neurologisch zeigte der Junge einen Plagiozephalus, einen Schiefhals nach links sowie eine leichte muskuläre Hypotonie. Die erweiterte Anamnese war ohne Besonderheiten. Der Patient ist das erste Kind nicht blutsverwandter Eltern, Schwangerschafts- und Geburtsanamnese waren unauffällig (Spontangeburt, APGAR 1/8/10, Geburtsgewicht, Länge und Kopfumfang normal). Der postnatale Ernährungsaufbau war unproblematisch; eine Trink- oder Gedeihstörung wurde verneint. Mit 3 Monaten wurde eine Physiotherapie aufgrund des Plagiozephalus begonnen. Die psychomotorische Entwicklung verlief (knapp) altersgerecht, wobei der Junge sich im Alter von 6 Monaten noch nicht selbständig drehen konnte.

Bei dem dringenden Verdacht auf eine BNS-Epilepsie wurde ein EEG durchgeführt; dort fand sich eine modifizierte Form einer Hypsarrythmie mit intermittierend hochgespannter und asynchroner Hintergrundaktivität, sowie eine intermittierende epilepsiespezifische Aktivität multifokal links temporal betont (**Abbildung 1**). Unter Therapie mit Vigabatrin (100 mg/kgKG/Tag) wurde der Junge anfallsfrei, das EEG zeigte aber weiterhin ein abortives quasi kontinuierliches Hypsarrythmiesmuster. Nach Einführung einer Topiramat-Therapie

(Eddosis 7,5 mg/kgKG/Tag) kam es zu einer allmählichen Besserung der Hintergrundaktivität sowie Abnahme der epilepsiespezifischen Potenziale.

Zur weiteren Abklärung der Epilepsie wurden Untersuchungen in Blut, Liquor und Urin durchgeführt: Im Serum zeigte sich ein leicht erhöhtes Laktat (2,8 mmol/l; Norm: <1.70), als weiterer Hinweis für eine Laktatazidose fand sich in den Aminosäuren ein erhöhtes Alanin bei sonstig unauffälligen Aminosäuren (Alanin 577 mmol/l, Norm: 120-550). Im Liquor konnte das erhöhte Laktat (1,91 mmol/l; Norm: <1.70) bestätigt werden. In den organischen Säuren im Liquor und im Urin fanden sich jedoch keine Hinweise für eine Störung im mitochondrialen Energiestoffwechsel. Das Acylcarnitinprofil sowie die Transferrinelektrophorese (kongenitale Glykolysestörung) waren unauffällig. Eine Magnetresonanzuntersuchung des Neurokraniums zeigte eine normale Anlage aller Hirnstrukturen ohne Zeichen einer Reifungsstörung, insbesondere keine nekrotischen Veränderungen im Bereich der weissen und grauen Substanz und der Basalganglien. Die Magnetresonanztomographie („Chemical Shift Imaging“) hingegen zeigte eine generalisierte Laktaterhöhung, jedoch frontal links und links im Nucleus caudatus betont (**Abbildung 2**). Diese Befunde deuteten alle auf eine Störung im mitochondrialen Energiestoffwechsel hin. Die Muskelbiopsie zeigte weder histologisch noch histochemisch Anhaltspunkte für eine mitochondriale Dysfunktion. In der spektrophotometrischen Untersuchung der Atemkettenkomplexe konnte jedoch ein isolierter Komplex V-Mangel nachgewiesen werden (**Tabelle 1**). Dieser isolierte Defekt konnte sowohl spektrophotometrisch als auch oxymetrisch in Hautfibro-

blasten bestätigt werden. Eine Analyse des mitochondrialen Genoms aus Lymphozyten ergab eine Punktmutation im MT-ATP6-Gen. Das MT-ATP6-Protein entspricht einer Untereinheit des Komplex V der Atemkette. Diese Mutation (T8993G) führt zu einem Austausch der Aminosäure Leucin durch ein Arginin an der 156. Position des ATP6-Proteins (**Abbildung 3**). Die Mutation konnte mit einem Anteil von 85% in Lymphozyten nachgewiesen werden.

Im Alter von 8 Monaten war der Junge irriter und müder als früher, trotz leichter Entwicklungsfortschritte bestand insgesamt ein zunehmender psychomotorischer Entwicklungsrückstand. Anfälle wurden keine mehr beobachtet und das EEG zeigte einzig eine leicht allgemeinveränderte Grundaktivität ohne Nachweis epilepsiespezifischer Potenziale.

Diskussion

Die BNS-Epilepsie ist eine bekannte, in der Regel symptomatische Form der Epilepsie, der jedoch nur selten eine Mitochondriopathie zugrunde liegt. Krampfanfälle sind bei Mitochondriopathien zwar häufig, jedoch selten in Form von infantilen Spasmen. Mitochondriopathien können grundsätzlich in jedem Alter auftreten und jedes Gewebe in jeglicher Kombination betreffen. Im Säuglingsalter manifestieren sich Mitochondriopathien jedoch klassischerweise mit einer metabolischen Azidose, Organversagen oder mit syndromalen Formen [3]. Das Leigh-Syndrom ist eine der häufigsten Manifestationsformen dieser Krankheiten im Säuglingsalter. Es geht mit pathognomonischen Veränderungen im MRI

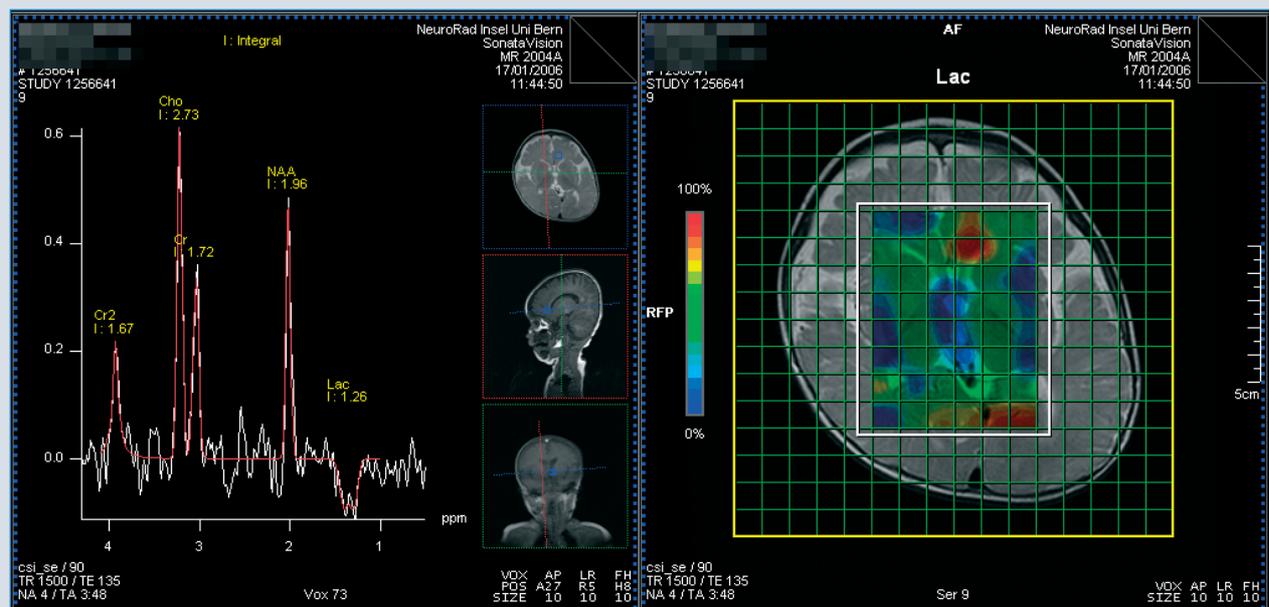


Abbildung 2 A zeigt das in vivo NMR-Spektrum aus dem blauen Voxelpunkt im Frontallappen links, gemessen auf einem 1,5 Tesla-Siemens-Sonata-Scanner (2D PRESS CSI-Sequenz mit TE= 135 ms; TR= 1,5sec; 16 x 16 Voxels; Voxel-Größe 10 mm x 10 mm x 10 mm). Bei TE= 135 ms zeigt das Laktat-Doublet bei 1,35 ppm sich auf Grund seiner J-Kopplung invertiert. Die geschätzte Laktat-Konzentration an dieser Stelle beträgt etwa 2 mmol/kg. In gesundem Hirngewebe ist kein Laktat-Peak sichtbar.

Abbildung 2 B zeigt die Laktat-Verteilung für die gemessene Schicht. Für die blau eingefärbten Regionen ist kein Laktat nachweisbar.

im Sinne von bilateralen nekrotischen Veränderungen der grauen und weissen Substanz und der Basalganglien, insbesondere des Putamens einher. Es werden aber auch Leigh-ähnliche Krankheitsbilder mit weniger fulminantem Verlauf beschrieben, bei denen eine BNS-Epilepsie Erstmanifestation des Krankheitsgeschehens sein kann [4].

Bei unserem Patient zeigte sich nur eine minimale Laktaterhöhung. Entgegen der weit verbreiteten Meinung schliessen ein normales Laktat oder normale organische Säuren eine Mitochondriopathie nicht aus und finden sich nur bei ca 85% der Patienten. Daher können bei unklarer Symptomatik nur weitere funktionelle biochemische und genetische Untersuchungen eine mitochondriale Störung ausschliessen. Bei unserm Patienten konnten wir sowohl im Muskel als auch in Hautfibroblasten einen eindeutigen Defekt des Komplex V der Atemkette nachweisen. Genetisch konnte dieser Defekt durch eine Punktmutation im MT-ATP6-Gen bestätigt werden. Diese Mutation kann, aufgrund einer strukturell und funktionell veränderten mitochondrialen ATP-Synthase, zu einer schweren Beeinträchtigung der mitochondrialen ATP-Synthese führen [5]. Die Restaktivität des betroffenen Atemkettenkomplexes in den jeweiligen Organen wird bei mitochondrialen DNA-Mutationen am ehesten auf die gewebespezifische Heteroplasmie (Anteil mutierter mtDNA) zurückgeführt [6]. Bisher wurde die oben genannte Mutation vor allem im Zusammenhang mit dem NARP-Syndrom, eine klinisch heterogene Erkrankung des jungen Erwachsenen mit senso-motorischer Neuropathie, zerebellärer Ataxie und Retinitis pigmentosa oder mit dem (maternal vererbten) Leigh-Syndrom beschrieben [7]. In der neueren Literatur gibt es jedoch auch zunehmend atypische Verläufe. Die klinische Heterogenität ein und derselben Mutation lässt sich am ehesten durch die gewebespezifische Heteroplasmie erklären, die von 1-99% variieren kann. Ein Leigh-Syndrom tritt wahrscheinlich dann auf, wenn die Mutation mit einem Anteil von über 95% im ektodermalen Gewebe vorliegt. Bei einem niedrigeren Prozentsatz ist eher mit einem milderen Krankheitsverlauf im Sinne einer NARP-Symptomatik zu rechnen. Das Vorliegen einer Heteroplasmie von 85%, also hoch aber doch tiefer als 95%, könnte bei unserem Kind erklären, weshalb kein klassisches Leigh-Syndrom, jedoch ebenfalls eine schwerwiegende Manifestation bereits im Säuglingsalter aufgetreten ist. Die Abklärung genetischer Krankheiten als Ursache von schweren oder unklaren Epilepsien ist wichtig und wird an diesem Patienten sehr deutlich. Der Nachweis einer mitochondrialen Erkrankung hat sowohl in der prognostischen Beratung der Eltern, in der Betreuung des Kindes als auch in der genetischen Beratung der Eltern eine wichtige Bedeutung. Trotz der schlechten Prognose betreffend den weiteren Langzeitverlauf ist es wichtig, weitere Organbeteiligungen frühzeitig zu erfassen, insbesondere ophthalmologische Veränderungen und Hörprobleme. Zudem sollten gewisse Medikamente gemieden und

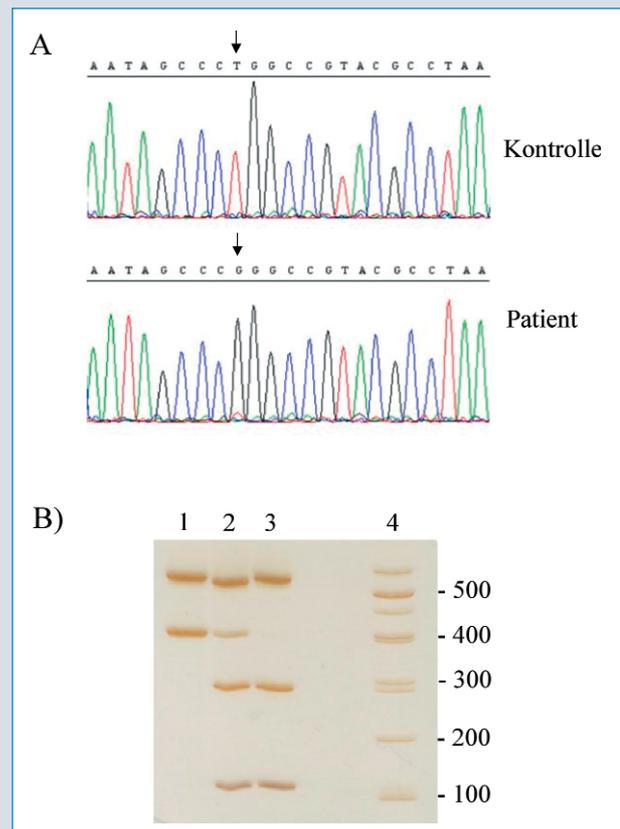


Abbildung 3: Molekulargenetische Analyse der aus Leukozyten extrahierten mitochondrialen DNA.
A) Chromatogramm der T zu G-Transversion an Position 8993 im MT-ATP6-Gen des Patienten (mit einem Pfeil markiert).
B) Restriktions-Fragment-Längen- Polymorphismus (RFLP)-Analyse des MTATP6 PCR-Produktes geschnitten mit HpaI zeigt die Heteroplasmie der 8993T>G-Mutation. 1) Normalsequenz, 2) Patient, 3) homoplasmisch mutierte Sequenz und 4) Grössenmarker.

bei Anästhesien besondere Vorsichtsmassnahmen getroffen werden.

Da die Mutation höchstwahrscheinlich eine mütterlich vererbte Mutation ist, muss mit den Eltern eine genetische Untersuchung der Mutter besprochen werden. Dies ist sowohl von Bedeutung für die Abklärung anderer Familienmitglieder als auch für die Beratung bei weiterem Kinderwunsch. Die Vorhersage der möglichen Transmission der mtDNA wird kontrovers diskutiert, es gibt aber Anhaltspunkte, dass Mütter mit einer geringen Heteroplasmie ein geringeres Risiko für schwer erkrankte Kinder haben, als solche mit einer hohen Heteroplasmie [8].

Tabelle 1:

Bestimmung der OXPHOS-Aktivitäten im Skelettmuskel

Oxidoreduktasen	Patient MU/mU Citratsynthase	Kontrolle MU/mU Citratsynthase	Range MU/mU Citratsynthase
Complex I NADH: Ubiquinone Oxidoreduktase	0,16	0,14	0,11-0,29
Complex II Succinate: DCIP Oxidoreduktase	0,13*	0,17	0,14-0,36
Complex III Decylubiquinol: Ferricytochrome Oxidoreduktase	0,72	0,90	0,54-1,16
Complex IV Ferricytochrome: Oxygen Oxidoreduktase	1,00	0,74	0,51-1,44
Complex V ATPase	0,08	0,21	0,17-0,55
Citratsynthase (mU/mg protein)	72*	238	70-224

* Die grenzwertig erniedrigten Komplex II-Werte wurden nicht als hinweisend für einen primären Defekt gewertet, die tiefe Citratsynthase spricht für einen hohen Fettgehalt des Muskelgewebes.

Referenzen

1. Cowan LD, Hudson LS. The epidemiology and natural history of infantile spasms. *J Child Neurol* 1991; 6: 355-364
2. Chugani HAT, Conti JR. Etiologic classification of infantile spasms in 140 cases: role of positron emission tomography. *J Child Neurol* 1996a; 11: 44-48
3. Garcia-Cazorla A, De Lonlay P, Nassogne MC et al. Long-term follow-up of neonatal mitochondrial cytopathies: a study of 57 patients. *Pediatrics* 2005; 116: 1170-1177
4. Desguerre I, Pinton F, Nabbout R et al. Infantile spasms with basal ganglia MRI hypersignal may reveal mitochondrial disorder due to T8993G MT DNA mutation. *Neuropediatrics* 2003; 34: 265-269
5. Vazquez-Memije ME, Shanske S, Santorelli FM P et al. Comparative biochemical studies of ATPases in cells from patients with the T8993G or T8993C mitochondrial DNA mutations. *J Inherit Metab Dis* 1998; 21: 829-836
6. Enns GM, Bai RK, Beck AE, Wong LJ. Molecular-clinical correlations in a family with variable tissue mitochondrial DNA T8993G mutant load. *Mol Genet Metab* 2006 Mar 17 (Epub ahead of print)
7. Santorelli FM, Tessa A. Neuropathy, ataxia and retinitis pigmentosa (NARP) syndrome. *Orphante Enciclopedia* April 2004: 1-4
8. White SL, Collins VR, Wolfe R et al. Genetic counseling and prenatal diagnosis for the mitochondrial DNA mutations at nucleotide 8993. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 474-482

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Julia Pavlovic

Inselspital Bern

Abteilung Neuropädiatrie

Kinderkliniken der Universität Bern

CH 3010 Bern

Tel. 0041 31 632 3110

Fax 0041 31 632 4437

julia.pavlovic@insel.ch