

## Poster P.08.50

### GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATIONS, NOVEL PATHOGENETIC MECHANISMS, AND PILOT CLINICAL STUDIES IN NEONATAL EPILEPSIES ASSOCIATED TO MUTATIONS IN THE KCNQ2/3 POTASSIUM CHANNEL GENES

Miceli F.<sup>[1]</sup>, Soldovieri M.V.<sup>[2]</sup>, Ambrosino P.<sup>[3]</sup>, Lauritano A.<sup>[1]</sup>, Nappi P.<sup>[1]</sup>, Longobardi E.<sup>[1]</sup>, Mosca I.<sup>[2]</sup>, Tagliatela M.\*<sup>[1]</sup>

<sup>[1]</sup>Dept. of Neuroscience, University Federico II ~ Naples ~ Italy, <sup>[2]</sup>Dept. of Medicine, University of Molise ~ Campobasso ~ Italy, <sup>[3]</sup>Dept. of Science and Technology ~ Benevento ~ Italy

Epilepsy affects 0.5-1% of the general population. Among genetic epilepsies, mutations in KCNQ2 and KCNQ3 genes encoding for voltage-dependent K<sup>+</sup> channel subunits cause neonatal epilepsies with wide phenotypic heterogeneity. On the benign end of the spectrum is Benign Familial Neonatal Seizures (BFNS), a rare, autosomal-dominant epilepsy of newborns, characterized by recurrent seizures that begin in the very first days of life and remit after a few weeks or months with mostly display normal interictal EEG, neuroimaging, and psychomotor development. More recently, KCNQ2 mutations have been described in neonates affected with pharmaco-resistant seizures with psychomotor retardation, suppression-burst pattern at the EEG, and distinct neuroradiological features, thus defining a so-called "KCNQ2 encephalopathy". The molecular basis for this striking phenotypic heterogeneity is unknown, and no rational therapy exists for the most severe forms. Moreover, the phenotypic spectrum of KCNQ3-related diseases is poorly-defined.

In its original formulation, in the present research project, we proposed: 1. To explore the functional consequences of KCNQ2 mutations associated to neonatal epilepsies to expand the spectrum of molecular mechanisms responsible for disease pathogenesis in each individual/family by state-of-the-art biochemical, electrophysiological, computational, genetic, and in-silico structural modelling; 2. To develop novel animal models of KCNQ2 dysfunction; 3. To test whether treatment with a KCNQ2 opener may improve epileptic phenotype and developmental outcome in children affected with the most severe forms of KCNQ2-related epilepsy (this latter aim was later removed because of retigabine removal from the market).

In the last two years, we have expanded the description of the clinical spectrum of KCNQ2 and KCNQ3-related diseases to include: a. the first case of encephalopathy caused by two KCNQ3 missense mutations (V359L and D542N) in compound heterozygosis (Ambrosino et al., Mol. Neurobiol. 2018); b. specific GoF variants in KCNQ3 causing neurodevelopmental disability, autism spectrum disorders, and abundant sleep-activated spikes (Sands et al., 2019); and c. a proband with a severe phenotype characterized by neonatal-onset pharmacodependent seizures, with developmental delay and intellectual disability carrying a homozygous KCNQ3 loss-of-function variant (Lauritano et al., 2019). In addition, we have started to develop cellular models and tools for a campaign toward the development of novel KCNQ modulators to be used as anticonvulsants (Ostacolo et al., 2019, submitted). Uncovering novel genotype-phenotype correlations in KCNQ2- and KCNQ3-linked channelopathies will have relevant impact on disease-management procedures (i.e. for early genotyping) and on clinical course prediction and treatment, as targeted therapy with KCNQ openers may improve epilepsy and neurodevelopmental outcome in children with KCNQ2/3 encephalopathy.

L'epilessia colpisce lo 0.5-1% della popolazione. Tra le epilessie genetiche vi sono alcune forme fenotipicamente eterogenee associate a mutazioni nei geni KCNQ2 e KCNQ3 che codificano per canali del K<sup>+</sup> voltaggio-dipendenti. Dal lato benigno dello spettro troviamo le Convulsioni Benigne

Familiari Neonatali, autosomico-dominanti, con convulsioni che iniziano nei primi giorni di vita e scompaiono dopo poche settimane, normale EEG intercritico, neuroradiologia, e sviluppo psicomotorio. Più recentemente, mutazioni de novo in KCNQ2 sono anche state descritte in neonati con convulsioni farmacoresistenti, ritardo neurocognitivo, e caratteristiche neuro radiologiche distintive, definendo una “encefalopatia KCNQ2”. Le basi molecolari per tale eterogeneità fenotipica sono ignote, e non esistono terapia efficaci per le forme più severe. Inoltre, lo spettro fenotipico associato alle varianti in KCNQ3, più rare, è molto meno chiaro.

Gli obiettivi del presente progetto erano: 1. Esplorare le conseguenze funzionali delle mutazioni in KCNQ2 per espandere lo spettro di meccanismi molecolari responsabili della patogenesi della malattia in ciascun soggetto/famiglia mediante approcci biochimici, elettrofisiologici, computazionali, genetici, e di modelling molecolare in-silico; 2. Sviluppare nuovi modelli animali di disfunzione in KCNQ2; 3. Valutare se il trattamento con attivatori dei canali KCNQ2 possano migliorare il fenotipo epilettico e lo sviluppo neuro cognitivo nei bambini con le forme più severe di encefalopatia KCNQ2. Quest’ultimo obiettivo è stato poi rimosso a causa del ritiro della retigabina dal mercato.

Durante gli ultimi due anni, abbiamo ampliato la descrizione dello spettro fenotipico delle malattie associate a KCNQ2 e KCNQ3, descrivendo; a. il primo caso di encefalopatia causata da due mutazioni missenso in KCNQ3 in eterozigosi composta (Ambrosino et al., Mol. Neurobiol. 2018); b. varianti con guadagno-di-funzione (GoF) in KCNQ3 responsabili di disabilità del neurosviluppo, autismo, e anomalie elettroencefalografiche nel sonno (Sands et al., 2019); e c. un probando con fenotipo grave con convulsioni farmacodipendenti ad insorgenza neonatale e disabilità del neurosviluppo causate da una variante con perdita di funzione in KCNQ3 per la prima volta descritta in omozigosi (Lauritano et al., 2019). Inoltre, abbiamo iniziato lo sviluppo di modelli cellulari utili per una campagna di valutazione di nuovi farmaci modulatori dei canali KCNQ (Ostacolo et al., 2019, submitted). E’ possibile anticipare che l’identificazione di nuove correlazioni genotipo-fenotipo nelle canalopatie associate a KCNQ2 e KCNQ3 avrà un impatto notevole sulla gestione diagnostica (ad esempio per la genotipizzazione precoce), sulla prognosi, e l’approccio terapeutico di questi pazienti, dal momento che terapie personalizzate con modulatori dei canali KCNQ potrebbero migliorare le convulsioni e la disabilità neurocognitiva ad esse associate in questi bambini.

Ambrosino P, Freri E, Castellotti B, et al. Kv7.3 Compound Heterozygous Variants in Early Onset Encephalopathy Reveal Additive Contribution of C-Terminal Residues to PIP2-Dependent K+ Channel Gating. Mol Neurobiol. 2018 Aug;55(8):7009-7024.

Lauritano A, Moutton S, Longobardi E, et al. A novel homozygous KCNQ3 loss-of-function variant causes non-syndromic intellectual disability and neonatal-onset pharmacodependent epilepsy. Epilepsia Open. 2019 Aug 11;4(3):464-475.

Sands TT, Miceli F, Lesca G, et al. Autism and developmental disability caused by KCNQ3 gain-of-function variants. Ann Neurol. 2019 Aug;86(2):181-192

Malattie associate a mutazioni in KCNQ

Coordinator: Maurizio Tagliatela

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2016

**Telethon Project (nr):**

GGP15113

**Disease Name:**

KCNQ-related Diseases

**Keywords:**

epilessia, disabilità del neurosviluppo, canali ionici