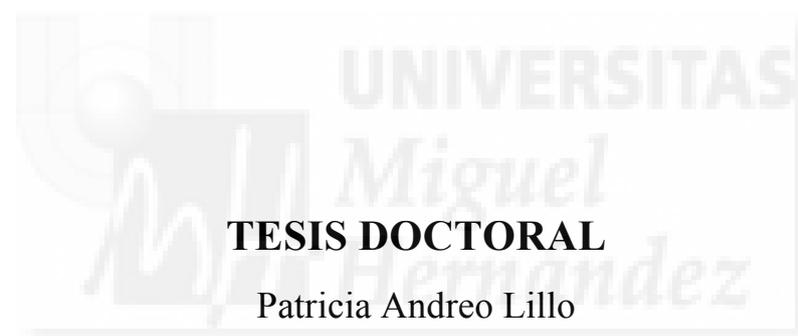


HALLAZGOS CLÍNICOS EN PACIENTES
NEUROPEDIÁTRICOS CON MUTACIONES EN
LA REGIÓN CRÍTICA DE LA LIENCEFALIA



TESIS DOCTORAL

Patricia Andreo Lillo

Director:

Dr. Don Francisco Carratalá Marco

Codirector:

Dr. Salvador Martínez Pérez

Instituto de Neurociencias
Alicante, 2017

TESIS DOCTORAL

HALLAZGOS CLÍNICOS EN PACIENTES
NEUROPEDIÁTRICOS CON MUTACIONES EN
LA REGIÓN CRÍTICA DE LA LIENCEFALIA



Memoria realizada por Patricia Andreo Lillo para aspirar al grado
de Doctora en Medicina por la Universidad Miguel Hernández
bajo la dirección del Dr. Francisco Carratalá Marco y codirección
del Dr. Salvador Martínez Pérez

Instituto de Neurociencias

Alicante, 2017



D. Salvador Martínez Pérez, Director del Instituto de Neurociencias.

AUTORIZA:

La presentación y defensa de la tesis doctoral del trabajo “Hallazgos clínicos en pacientes neuropediátricos con mutaciones en la Región Crítica de la Lisencefalia” realizada por Patricia Andreo Lillo bajo la dirección del profesor Don Francisco Carratalá Marco.

Lo que firmo en San Juan a 30 de junio de Dos Mil Diecisiete

Fdo. D. Salvador Martínez Pérez



Don Francisco Carratalá Marco, Profesor titular de la Universidad Miguel Hernández, como director de la tesis

CERTIFICA:

Que el trabajo “Hallazgos clínicos en pacientes neuropediátricos con mutaciones en la Región Crítica de la Lisencefalia” realizada por Patricia Andreo Lillo ha sido llevado a cabo bajo mi dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como Tesis doctoral en la Universidad Miguel Hernández.

Lo que firmo para los oportunos efectos en San Juan de Alicante a 30 de de junio de Dos Mil Diecisiete.

Fdo. Prof. F. Carratalá Marco
Director de tesis



A los niños con necesidades especiales
y a sus familias

AGRADECIMIENTOS

Durante todo este tiempo son muchas las personas que han participado de una manera u otra en el desarrollo de este trabajo y a quienes quiero expresar mi enorme gratitud .

En primer lugar quiero agradecer de manera muy especial a mi Director de tesis, Paco Carratalá, su apoyo y confianza durante todo este tiempo. Sin él esta tesis no existiría. Gracias por embarcarme en esta aventura, por tu dedicación, motivación y aliento.

Por supuesto, mi agradecimiento a mi Co Director de tesis, Dr Salvador Martínez, por su respaldo, experiencia y ayuda desinteresada.

Agradecer, como no, al Instituto de Neurociencias y en concreto al equipo del Laboratorio de Embriología Experimental, su estimada colaboración.

Asimismo, un especial agradecimiento a mis pequeños pacientes y a sus familias, por ser el alma y el motor de este proyecto.

Dar las gracias a mis amigos y compañeros de trabajo que, de un modo u otro, han estado a mi lado en este camino, haciendo mención especial a Jose y Julio, dos personas imprescindibles en mis primeros pasos como pediatra.

Y finalmente a mi familia, por su apoyo incondicional. A mis padres por su inestimable ayuda; a Juan por estar siempre ahí y a mis hijos, Elena, Quique y Marta, por ser la inspiración de todo lo que hago.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	27
1.1	DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL	29
1.1.1	EMBRIOLOGÍA	29
1.1.2	FISIOLOGÍA:	35
1.2	MALFORMACIONES DEL DESARROLLO CORTICAL	38
1.2.1	ETIOLOGÍA:	38
1.2.2	CLASIFICACIÓN:	38
1.2.3	CLÍNICA:	40
1.3	EPILEPSIA	41
1.4	TRASTORNOS DEL NEURODESARROLLO	42
1.4.1	RETRASO PSICOMOTOR (RPM)	42
1.4.2	PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL (PCI)	43
1.4.3	RETRASO MENTAL (RM)	45
1.4.4	TRASTORNO DE ESPECTRO AUTISTA (TEA)	46
1.4.5	TRASTORNO POR DÉFICIT DE ATENCIÓN CON (TDAH) O SIN HIPERACTIVIDAD	47
1.4.6	TRASTORNO DEL APRENDIZAJE (TA)	48
1.4.7	TRASTORNO DEL LENGUAJE	49
1.4.8	TRASTORNOS DEL COMPORTAMIENTO EN NIÑOS	50
1.5	LIS1:	50
1.5.1	CONCEPTO:	51
1.5.2	ESTRUCTURA:	51
1.5.3	FUNCIÓN:	52
2	JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	57
2.1	JUSTIFICACIÓN:	57
2.2	HIPÓTESIS:	57
2.3	OBJETIVOS:	58

3	PACIENTES Y MÉTODOS	61
3.1	LUGAR DEL ESTUDIO:	61
3.2	DISEÑO DEL ESTUDIO:	61
3.3	PERIODO	61
3.4	POBLACIÓN:	62
3.4.1	GRUPO DE CASOS:	62
3.4.2	GRUPO DE CONTROLES:	63
3.5	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:	63
3.6	RECOGIDA DE DATOS CLÍNICOS:	64
3.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO:	64
3.8	ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR:	65
3.8.1	METODOLOGÍA	65
3.8.2	MARCADORES ANALIZADOS (Tabla 7)	66
3.9	LIMITACIONES DEL ESTUDIO:	71
4	RESULTADOS	75
4.1	ALTERACIONES GENÉTICAS DETECTADAS:	76
4.2	MOTIVO DE CONSULTA:	77
4.3	ANTECEDENTES PRE Y PERINATALES:	77
4.4	SEXO:	78
4.5	MUTACIONES EN LA REGIÓN GENÓMICA	79
4.6	ALTERACIONES EN LA TRANSCRIPCIÓN	81
4.7	MUTACIONES EN GENES RELACIONADOS	83
5	DISCUSIÓN	93
6	CONCLUSIONES	101
7	BIBLIOGRAFÍA:	105

8 ANEXOS.....	121
8.1 Anexo 1. Clasificación completa de las malformaciones del desarrollo cortical.....	121
8.2 Anexo 2: Tabla de desarrollo (0-5 años) Haizea-Llevant.....	128
8.3 Anexo 3: Signos de alerta del Retraso psicomotor (49).....	129
8.4 Anexo 4: Recogida de datos clínicos. Otras pruebas complementarias realizadas	131
8.5 Anexo 5: Resultados. Pacientes excluidos	131
8.6 Anexo 6: Mutaciones encontradas en función del motivo de consulta.....	132
8.7 Anexo 7: Alteraciones genéticas halladas en cada Caso.....	134
8.8 Anexo 8: Desglose de las mutaciones halladas en cada paciente en función del cuadro clínico.....	136
8.9 Anexo 9: Desglose de las mutaciones halladas en cada caso en función de la alteración estructural de la RMN	138

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACM: Arteria cerebral media

ACS: Atrofia córtico-subcortical

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNc: ADN complementario

AF: Alteraciones focales

AFP: Alteraciones fosa posterior

ALM: Anomalías de la línea media

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: ARN mensajero

ASB: Alteraciones sustancia blanca

AV: Alteración ventricular

BSID: Escala Bayley del Desarrollo Infantil

CEIC: Comité ético de investigación clínica

CC: Cuerpo Calloso

CI: Cociente intelectual

CIE-10: Clasificación Internacional de Enfermedades, 10ª edición

CP: Placa cortical

Cx: Corteza

dNTPs: desoxirribonucleótidos trifosfatados

DCF: Displasia cortical focal

DDST: Denver Developmental Screening test

DI: Discapacidad intelectual

DSM: Desarrollo psicomotor

DSM-IV: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, 4ª edición

DSM-V: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, 5ª edición

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EEG: Electroencefalograma

HELLP: acrónimo de “Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low platelet count”

HMG: Hemimegalencefalia

MDC: Malformaciones del desarrollo cortical

MFP: Malformación fosa posterior
MGE: Eminencia ganglionar media
MSCA: Escala de McCarthy
NCPP: National Collaborative Perinatal Project
PCI: Parálisis cerebral infantil
PCR: Polimerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PMG: Polimicrogiria
RCL: Región crítica de la lisencefalia
RM: Retraso mental
RMN: Resonancia Magnética Nuclear
RPM: Retraso psicomotor
RT-PCR : Reverse Transcription-PCR
SNC: Sistema Nervioso Central
TA: Trastorno de aprendizaje
TAC: Tomografía axial computarizada
TC: Trastorno de conducta
TDAH: Trastorno por déficit de atención e hiperactividad
TEA: Trastorno del espectro autista
TEL: Trastorno específico del lenguaje
TGD: Trastorno generalizado del desarrollo
TGD-NOS: Trastorno generalizado del desarrollo no especificado
TOD: Trastorno oposicionista desafiante
VL: ventrículos laterales
WISC-R: Escala de inteligencia para niños de Wechsler
WPPSI: Escala de inteligencia para preescolares
ZI: Zona intermedia
ZM: Zona marginal
ZSV: Zona subventricular
ZV: zona ventricular

ÍNDICE DE FIGURAS*

Figura 1: Estadios principales de la formación de la corteza cerebral.....	29
Figura 2: Esquema de la proliferación celular.....	30
Figura 3: Migración neuronal: Radial vs Tangencial.....	31
Figura 4: Migración de las neuronas en la corteza en desarrollo.....	31
Figura 5: Esquema de las migraciones de las neuronas (flechas) en relación con la especificación molecular de los progenitores.....	32
Figura 6: Migración neuronal.....	32
Figura 7: Organización cortical.....	35
Figura 8: Organización cortical. Pirámides grandes y pequeñas e interneuronas estrelladas. Proyecciones típicas de las pirámides según la capa que ocupan y tipos de fibras aferentes al isocortex.....	35
Figura 9: Esquema de los distintos pasos de Lis 1 y Relina en la migración neuronal.....	37
Figura 10: Estructura del gen LIS 1.....	51
Figura 11: : Diagrama simplificado que describe la relación conocida de las proteínas en la migración neuronal de ratones y humanos.....	53
Figura 12: Departamento 17 de la provincia de Alicante.....	61
Figura 13: Resumen esquemático del estudio.....	63
Figura 14: Pasos de un ciclo de PCR.....	65
Figura 15: Se representa la región genómica de 635 kb localizada en la RCL en 17p13.3.....	67
Figura 16: Esquema de la RCL localizado en el cromosoma 17p13.3.....	67
Figura 17: Región complementaria del gen LIS1.....	68
Figura 18: RM cerebral del caso nº 5.....	80
Figura 19: RM cerebral del caso nº 9.....	80
Figura 20: RM cerebral del caso nº 38.....	82
Figura 21: RM cerebral del caso nº3.....	82
Figura 22: RM cerebral del caso nº 35.....	82
Figura 23: RM cerebral del caso nº 17.....	84
Figura 24: RM cerebral del caso nº 16.....	84

* Esta tesis se apoya en un importante número de imágenes, por lo que quiero agradecer a los autores de las mismas, su colaboración y permiso para la utilización de éstas.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Genes implicados en malformaciones secundarias a alteraciones en la migración cortical.....	36
Tabla 2: Sistema de clasificación de las malformaciones corticales.....	39
Tabla 3: Puesta al día en 2012 de la Clasificación de malformaciones corticales.....	39
Tabla 4: Test de despistaje y escalas para valoración del DSM	42
Tabla 5: Gravedad de retardo mental. Clasificación	45
Tabla 6: Condiciones de PCR	66
Tabla 7: Marcadores analizados del gen <i>LIS1</i>	68
Tabla 8: Tipo de alteraciones genéticas encontradas y la comparativa entre casos y controles.	76
Tabla 9: Comparación de presentar o no antecedentes pre y perinatales, pacientes con y sin mutación	78
Tabla 10: Comparativa entre pacientes niños o niñas con y sin mutación.....	79
Tabla 11: Análisis estadístico en función de la clínica y la presencia o no de mutación	86
Tabla 12: Tipo de epilepsia en función de si presentan o no mutación	86
Tabla 13: Refractariedad terapéutica en función de la presencia de mutación	86
Tabla 14: Análisis estadístico en función de la alteración en RMN y la presencia o no de mutación	88
Tabla 15: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de mutaciones en la región genómica	88
Tabla 16: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de alteraciones en la transcripción.	88
Tabla 17: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de mutaciones en otros genes relacionados.....	89
Tabla 18: Análisis estadístico en función de su la alteración es cortical o subcortical.	89

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Tipo de alteraciones genéticas encontradas	76
Gráfico 2: Comparativa de los diferentes motivos de consulta en pacientes que presentaron mutación y en los que no	77
Gráfico 3: Comparación de presentar o no antecedentes pre y perinatales, pacientes con y sin mutación	78
Gráfico 4: Sexo en pacientes con y sin mutación	78
Gráfico 5: Tipo de mutaciones en el ADN genómico.....	79
Gráfico 6: Tipo de alteraciones en la transcripción	81
Gráfico 7: Mutaciones de genes relacionados.....	83
Gráfico 8: Cuadro clínico en función de la alteración genética presente.....	85
Gráfico 9: Comparación de los hallazgos clínicos en el grupo con y sin mutación.....	85
Gráfico 10: Alteraciones estructurales en RMN en función de la mutación que presente	87
Gráfico 11: Alteraciones estructurales de la RMN en función de si presentan o no mutación.....	87

1. INTRODUCCIÓN



1 INTRODUCCIÓN

El retraso psicomotor, la epilepsia y en general los trastornos del neurodesarrollo, son entidades muy prevalentes en la edad pediátrica y suponen un reto profesional para el pediatra y un importante desafío para los sistemas sanitarios, ya no sólo desde el punto de vista epidemiológico sino también ético.

La angustia que genera este tipo de entidades en la familia y entorno del niño es enorme y supone un impacto significativo tanto social como económico en la dinámica familiar. Los problemas diagnósticos, las dificultades en dar un pronóstico y los escasos recursos terapéuticos disponibles contribuyen a este hecho. Por este motivo es fundamental intentar aproximarnos a la identificación y el conocimiento de las bases etiológicas de estas patologías, y así poder guiar a las familias y evitarles preocupaciones innecesarias por informaciones imprecisas y pseudocientíficas.

Dado que todos estos trastornos tienen su base fisiopatológica total o parcialmente localizada en la corteza cerebral, el conocimiento de la misma y su asociación con el neurodesarrollo, se hace indispensable ya no solo para el adecuado manejo de la patología derivada de sus alteraciones, sino para hacer entender a la familia la naturaleza del problema que afrontan y orientarles adecuadamente.

La corteza cerebral, es una estructura anatómica conocida desde antiguo, y está constituida por una lámina de sustancia gris que cubre los hemisferios cerebrales, con una estructura extremadamente compleja. Es una de las regiones del Sistema Nervioso Central (SNC) que más se ha estudiado por su participación en procesos tan importantes como la memoria, el aprendizaje, el comportamiento o los sentimientos.

La organización de esta estructura, es el resultado de un lento proceso evolutivo y precisa una serie de procesos de diferenciación a nivel de las células del tubo neural embrionario y durante un patrón témporo-espacial determinado, para que ésta tenga lugar, como ha pormenorizado en sus trabajos Martínez et al. (1)(2)(3).

La proliferación de los precursores neuronales y la migración de las neuronas son probablemente los procesos más decisivos en el desarrollo cerebral, y por tanto, de su corteza. Como consecuencia de ello, diferentes grados de alteración en la proliferación y/o migración neuronal producen siempre cuadros malformativos que irán asociados a la aparición de importantes anomalías funcionales. Así, sabemos que este tipo de alteraciones estructurales pueden estar produciendo disfunciones cerebrales que sintómicamente se manifiesten como cuadros clínicos muy diversos, desde retraso psicomotor y trastornos de conducta (4) hasta cuadros de epilepsia y microcefalia, en cuya base patológica se encuentra la alteración estructural cortical (5) .

El conocimiento acerca de estos procesos del desarrollo cerebral es muy complejo y está en continua revisión. De hecho, las malformaciones del desarrollo cortical han interesado a clínicos y neurocientíficos desde hace décadas como quedó reflejado en los estudios de Friede en 1989 (6), Sarnat en 1992 (7) y Norman et al. en 1995 (8), en los que ya se le atribuía a las alteraciones de la estructuración de la corteza un papel importante en buena parte de la patología del neurodesarrollo. En estudios más próximos a nuestro medio, cabe destacar la gran actividad investigadora y productividad científica del grupo de Martínez et al., que ha estudiado en profundidad los mecanismos de desarrollo y maduración neuronal, y los factores moleculares que los controlan y regulan, en la corteza cerebral de ratones (1)(2), utilizando como herramienta molecular principal la expresión y función del gen *Lis 1*, y en concreto de la región crítica de la lisencefalia, así como la implicación de estas alteraciones de la corteza cerebral en enfermedades cerebrales y/o mentales en humanos (2) (3).

Para la correcta comprensión de la funcionalidad y estructuras que confieren a la corteza cerebral las propiedades que la convierten en una pieza decisiva del neurodesarrollo específico del ser humano, es imprescindible conocer primero como es el desarrollo normal de la corteza cerebral.

1.1 DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL

1.1.1 EMBRIOLOGÍA

El mecanismo de formación de la corteza cerebral es extremadamente complejo.

A modo de esquema hay que destacar las distintas fases de su formación: (2)

- Neurulación primaria: 3-4ª semana de gestación.
- Desarrollo prosencefálico: 2-3^{er} mes de gestación.
- Proliferación neuronal: 3-4^o mes de gestación.
- Migración: 3-5^o mes de gestación.
- Organización: del 5^o mes hasta época postnatal.
- Mielinización: después del nacimiento.

Para una mejor comprensión del proceso, éste se puede dividir en tres estadios principales: proliferación celular, migración celular y organización cortical (9) (Figura 1)

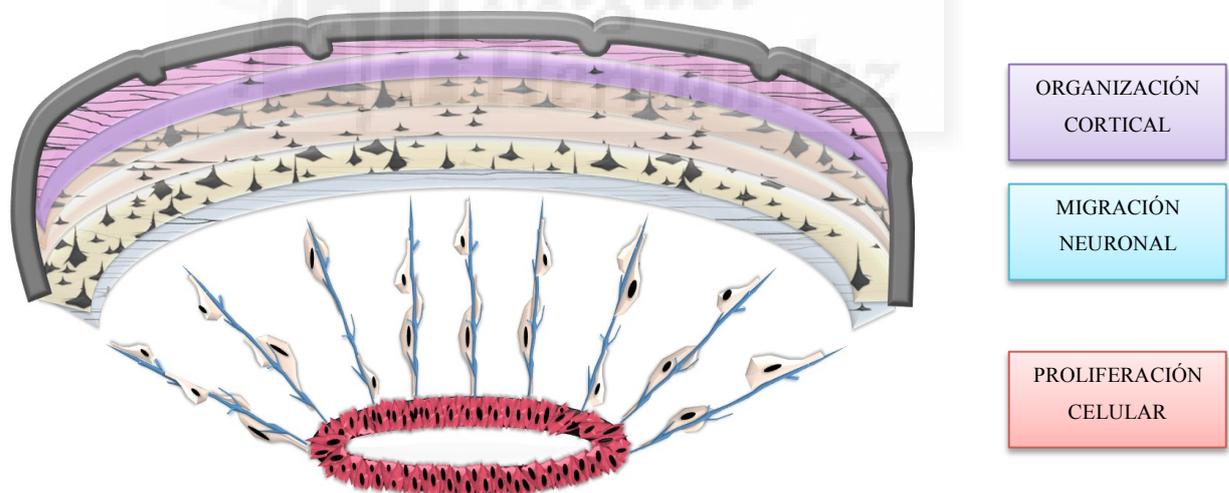


Figura 1: Estadios principales de la formación de la corteza cerebral. Imagen adaptada de Montejo Gañan, I et al. 2014. Alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral. (10)

- **Proliferación celular:**

En torno a la 7ª semana del desarrollo embrionario, entre la 6ª y la 20ª semana, se produce una proliferación de neuronas jóvenes en la capa subependimaria de las paredes de los ventrículos laterales (VL). Esta área de proliferación celular se denomina *matriz germinal*, y en ella tiene lugar la mitosis de las células madre para la producción de las neuronas y células gliales que formarán el cerebro maduro.

Algunas de estas nuevas células, neuroblastos, meduloblastos y espongioblastos, formadas en la mitosis permanecerán en la matriz germinal dando lugar a nuevas mitosis, mientras que otras migrarán hacia su destino cortical, al tiempo que van completando su maduración, respectivamente, como neuronas, oligodendrocitos y astrocitos. (Figura 2)

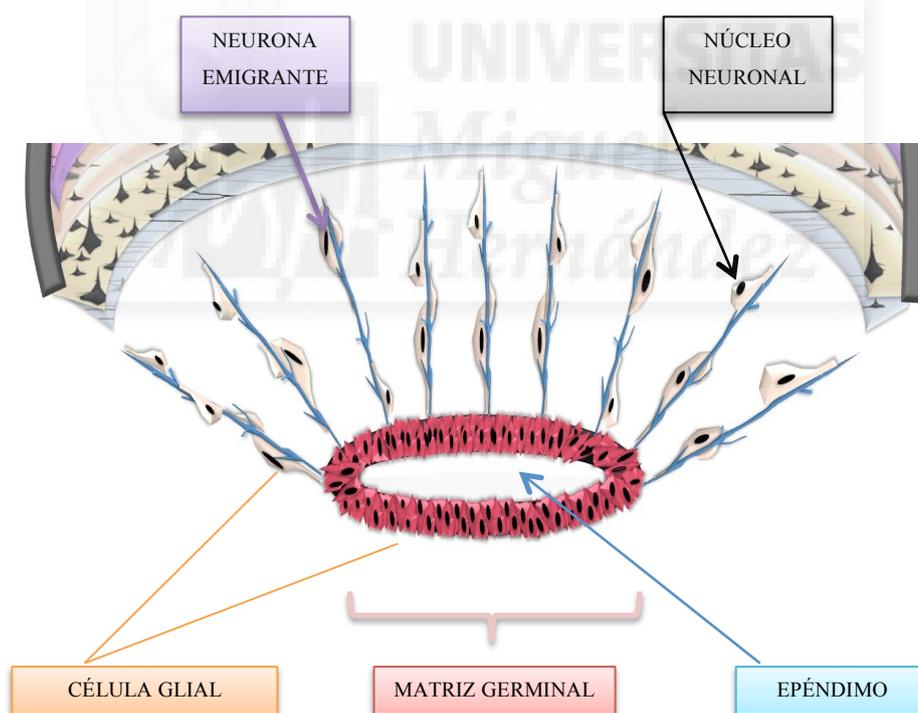


Figura 2: Esquema de la proliferación celular. Imagen adaptada de Montejo Gañan, I et al. 2014. Alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral. (10)

- **Migración neuronal:**

En la 8ª semana de edad gestacional y hasta la 20-24, comienza la migración de las primeras neuronas jóvenes desde la matriz germinal hacia la superficie del cerebro para formar el córtex cerebral. (Figura 3)

Para ello, primero se produce una elongación de las células de la matriz germinal, colocándose el núcleo en el extremo más alejado de la superficie ventricular. Posteriormente, la mayoría de las neuronas que formarán el córtex migrarán utilizando como guía las células gliales radiales, que se agrupan en fascículos de 4 a 10 células y atraviesan el espesor del hemisferio desde la superficie ventricular hasta la piamadre.

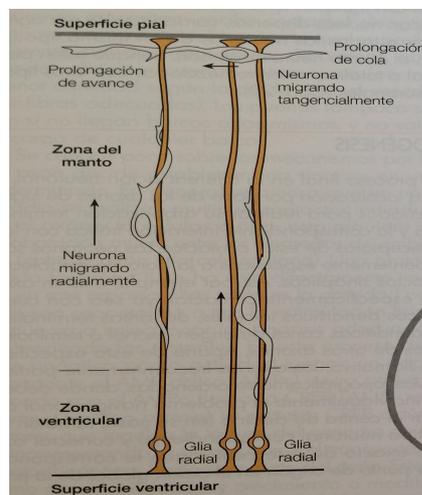


Figura 3: Migración neuronal: Radial vs Tangencial. Imagen del libro Neuroanatomía . Procesos histogenéticos en el SNC de Puelles, L y Martínez, S (10)

Para la migración radial se usa como guía una fibra glial que se extiende a través de todo el espesor de la pared cerebral. Además de esta migración radial que es la que seguirán la mayoría de las neuronas que formarán la corteza cerebral, existe otro tipo de migración de tipo tangencial, que llevarán a cabo algunos tipos neuronales como las neuronas gabaérgicas, de las cuales el 35% se generan en la zona ventricular estriatal y migrarán a lo largo de los axones paralelos a la superficie cortical, perpendicularmente a las células gliales radiales (11) (12) (13) (Figura 4 y 5).

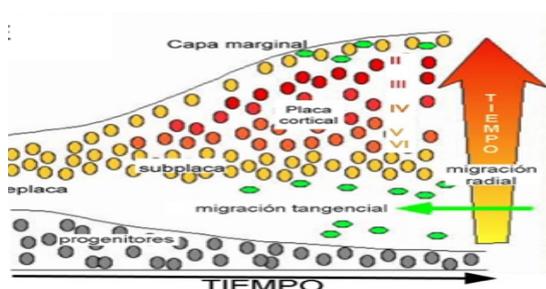


Figura 4: Migración de las neuronas en la corteza en desarrollo. Esquema de las neuronas migrando por los ejes de la glia radial. (12)

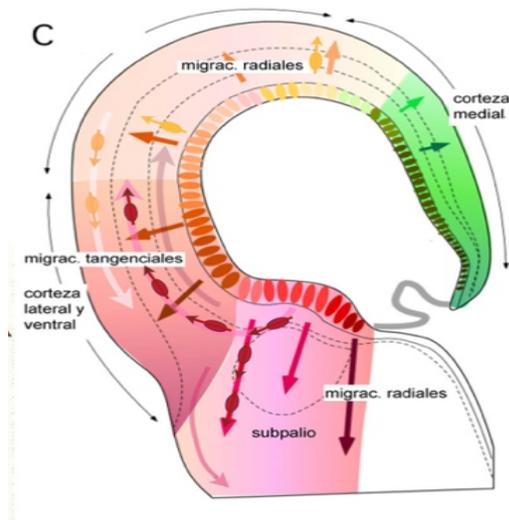


Figura 5: Esquema de las migraciones de las neuronas (flechas) en relación con la especificación molecular de los progenitores (13)

A modo de resumen:

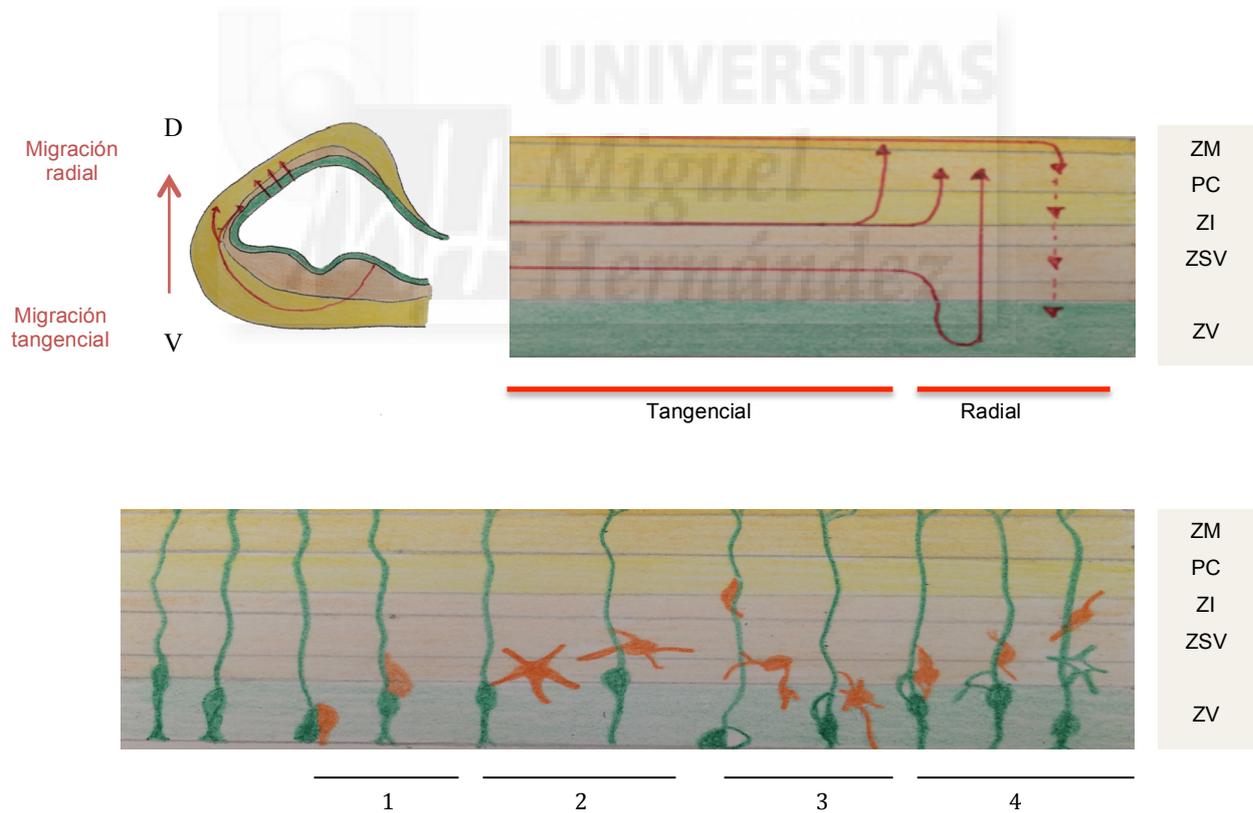


Figura 6: Migración neuronal. Imagen adaptada de Arnold R et al. 2004. [Patterns of neuronal migration in the embryonic cortex] (15)

EGM es la fuente principal de interneuronas que migrarán difusamente en el cerebro, incluyendo la corteza (Cx). La corteza en desarrollo se puede dividir en 5 subregiones que van de basal a apical. Zona ventricular (ZV); Zona subventricular (ZSV); Zona intermedia (ZI); Placa cortical (PC) y Zona marginal (ZM). Casi todas las neuronas de la corteza adulta se generan desde la zona ventricular o subventricular, y luego migran a la placa cortical

Desde la zona ventricular las neuronas migran en forma tangencial o radial. La tangencial es para las interneuronas inhibitorias (desde región ventral) y la radial para neuronas excitatorias (región dorsal). Para la migración radial se usa como guía una fibra glial que se extiende a través de todo el espesor de la pared cerebral. Las neuronas que se van generando van migrando a través de esta fibra para depositarse en la corteza.

(a) (b) Las interneuronas corticales derivan de la región ventral (V) del telencéfalo y alcanzan su localización final migrando a través de diferentes fases.

(a) Origen de las interneuronas en la parte ventral del telencéfalo. Muchas interneuronas corticales se generan en la EGM de la parte ventral y migran a través de la unión corticoestriatal para entrar en la parte dorsal (D) del telencéfalo.

(b) Las interneuronas corticales ascienden tangencialmente y después cambian de dirección para entrar en la placa cortical siguiendo el camino radial u oblicuo.

(c) Las neuronas corticales piramidales están sometidas a distintas fases de la migración. Fase 1: movimientos radiales de las neuronas piramidales desde su sitio de origen hasta la zona subventricular (ZSV). Fase 2: Las células se convierten en multipolares y detienen su migración en la zona intermedia (ZI) y subventricular (ZSV). Algunas neuronas se someten a la fase 3, que se caracteriza por el movimiento retrógrado hacia el ventrículo. Fase 4 es la fase final hacia la placa cortical

En los dos tipos de migración, tanto la radial como la tangencial, hay formación de neuritas, translocación somática y núcleocinesis.

Estos procesos que intervienen en la migración neuronal, son difíciles de describir someramente, pero son esenciales para la justificación de las hipótesis que se plantean en la presente memoria.

Así, el ciclo migratorio de las neuronas incluye la translocación del soma con movilización de material perinuclear, organelas y núcleo. Dicho ciclo aparece con morfología peculiar bien definida en una variedad de neuronas lo que refleja adaptación a ambientes específicos.

La estabilidad del mecanismo depende de la organización microtubular que asocia el borde celular con el soma; ya que el sistema de microtúbulos apoya dicho mecanismo y también permite el flujo de vesículas. En las células animales el centrosoma es el centro que organiza el citoesqueleto, la polimerización, el arreglo de los microtúbulos perinucleares y establece el contacto de los centriolos con la membrana nuclear.

La *núcleocinesis o movimiento del núcleo* determina la dirección del movimiento nuclear y la migración neuronal efectiva sólo se completa por la translocación subsecuente del soma.

Por lo tanto, el movimiento del centrosoma y del núcleo depende de la integridad de la red microtubular y de las modificaciones post-transcripción. Se ha dicho que los microtúbulos perinucleares se hallan conectados con el centrosoma que en sí es el centro que los organiza. Además, se han descrito otras proteínas asociadas con la polaridad celular que desempeñan un papel esencial en la coordinación del movimiento del centrosoma y del núcleo en cada ciclo migratorio.

Finalmente, una vez que las neuronas alcanzan su posición definitiva, requieren cancelar el programa migratorio y continuar su diferenciación hasta alcanzar las características morfológicas y funcionales que les corresponden (13).

- **Organización cortical:**

Tiene lugar desde la semana 16 hasta avanzada la edad postnatal. Inicialmente migrarán y llegarán al futuro córtex las neuronas de la capa molecular (capa 1), posteriormente se formarán las capas 7 (transitoria), 6, 5, 4, 3 y 2. A su llegada al córtex, las neuronas se disponen en láminas y establecen conexiones sinápticas con neuronas locales y a distancia (Figura 7 y 8)

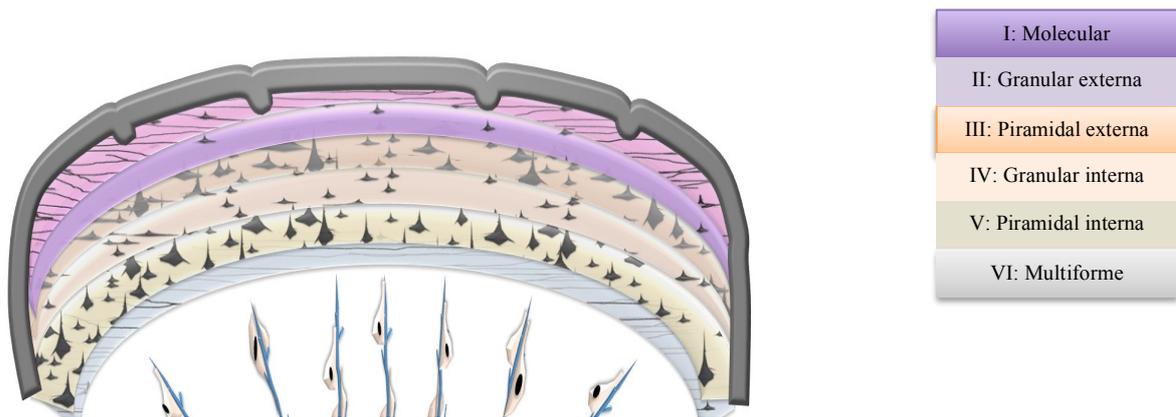


Figura 7: Organización cortical. Capas de la corteza cerebral. Imagen adaptada de Montejo Gañan, I et al. 2014. Alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral. (10)

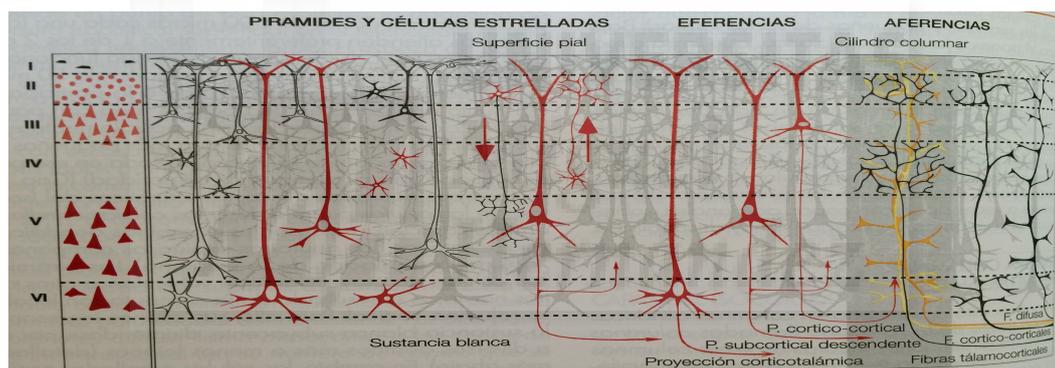


Figura 8: Organización cortical. Pirámides grandes y pequeñas e interneuronas estrelladas. Proyecciones típicas de las pirámides según la capa que ocupan y tipos de fibras aferentes al isocórtex. Imagen del libro Neuroanatomía. Corteza Cerebral. Isocórtex y Allocórtex. Puellas, L ; Martínez, S y Martínez de la Torre, M (15)

1.1.2 FISIOLÓGÍA:

La generación de una cantidad apropiada de neuronas en unas determinadas regiones del SNC, depende de una cuidadosa regulación entre balance espacio y tiempo. Este balance está controlado por las actividades de numerosos factores extracelulares e intracelulares (16)(17) . Recientemente ha habido un aumento en la identificación de las moléculas y mecanismos implicados en aspectos específicos de la neurogénesis.

Diversos estudios han identificado varios genes que están involucrados en las principales etapas del desarrollo cortical (18), (19).

A destacar, **LIS** (17p13.3) del que hablaremos con más detalle posteriormente, que codifica para la proteína PAFAH1B1, regula la dineína citoplasmática e influye en la función de los microtúbulos (20) (21) (22); **TUBA1A** (12q12-q14): Unidad alfa 1tubulina A.; **DCX**: gen de la doblecortina (Xq22.3), interviene en la polimeración y estabilización de los microtúbulos.; **ARX** (Xp22.13): nuevo factor de transcripción homeobox; **WDR2** (cr 9) función desconocida; **RELN**: reelina (7q22.1) glicoproteína relacionada con la interacción célula a célula de la migración (23), (24), (25); **VLDRL** (9p24): vía molecular de la reelina (Tabla 1)

Tabla 1: Genes implicados en malformaciones secundarias a alteraciones en la migración cortical (26)

GENES	FUNCIÓN
LIS (17p13.3)	<ul style="list-style-type: none"> - Codifica para la proteína PAFAH1B1, - Regula la dineína citoplasmática - Influye en la función de los microtúbulos
TUBA1A (12q12-q14)	<ul style="list-style-type: none"> - Unidad alfa 1tubulina A
DCX (Xq22.3)	<ul style="list-style-type: none"> - Gen de la doblecortina - Interviene en la polimeración y estabilización de los microtúbulos
ARX (Xp22.13)	<ul style="list-style-type: none"> - Nuevo factor de transcripción homeobox
WDR2 (cr 9)	<ul style="list-style-type: none"> - Función desconocida
RELN (7q22.1)	<ul style="list-style-type: none"> - Reelina (7q22.1) - Interacción célula-célula en la migración
VLDRL (9p24)	<ul style="list-style-type: none"> - Vía molecular de la reelina

La mutación, error de transcripción o influencia epigenética de estos genes y otros, llevarán en mayor o menor medida a alteraciones de la estructura cerebral, que a menudo se perciben como malformaciones en los estudios de imagen pre y postnatal. (Figura 9)

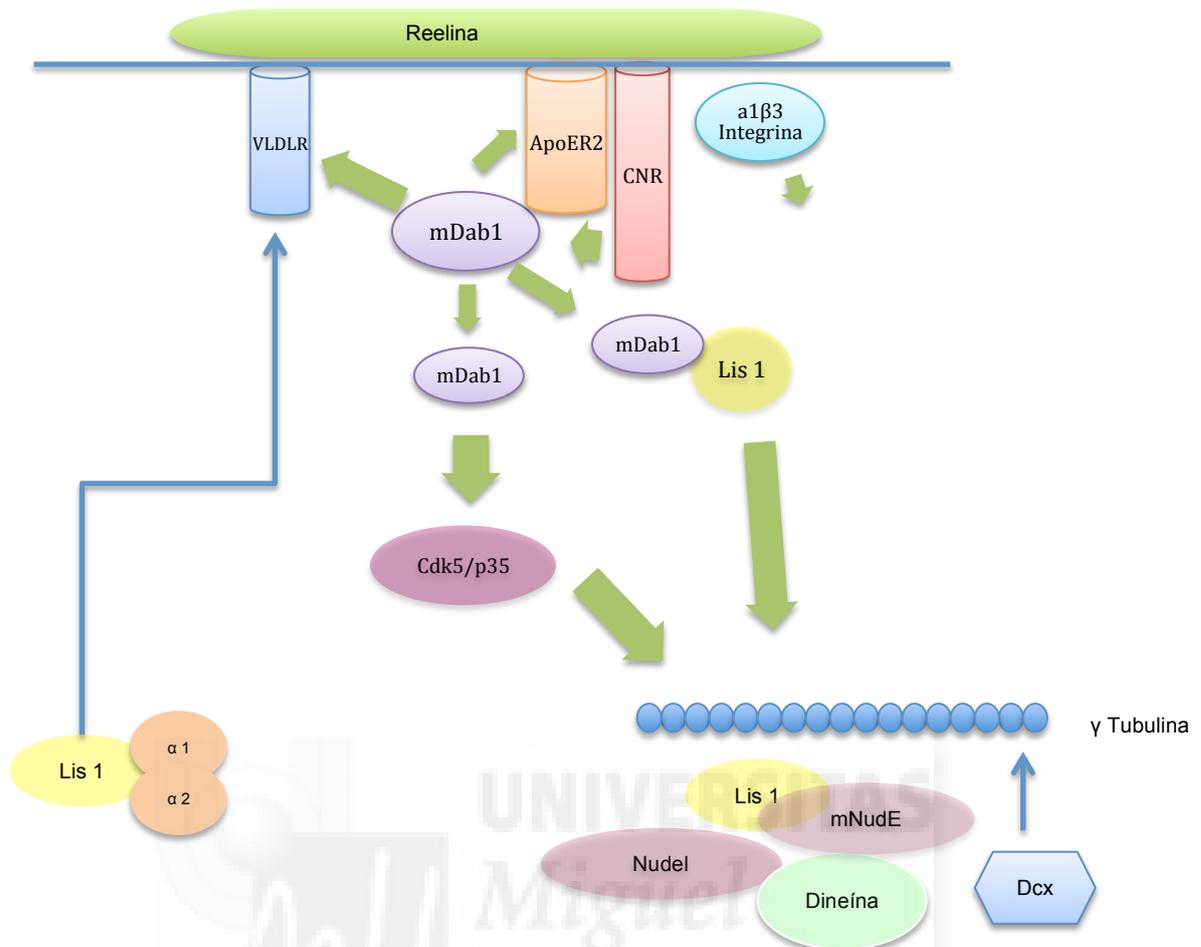


Figura 9: Esquema de los distintos pasos de Lis 1 y Relina en la migración neuronal. Imagen adaptada de Guerrini et al, 2010 [Lis1 and Reln signaling pathways for neuronal migration] (18), (19)

La Reelina extracelular se une a tres complejos receptores, CNR, VLDLR o $\alpha 1\beta 3$ Integrina. Estas uniones activan mDab1, que puede activar a su vez al Cdk5/p35. Cdk5 puede fosforilar muchos objetivos intracelulares, incluyendo Nudel. Nudel fosforilado va a formar un complejo con Lis1, mNudE, dineínas y microtúbulos, siendo este complejo necesario para la migración celular y la posición nuclear. También se cree que Dcx interactúa con Lis 1 y modula la función microtubular. Sobre la estimulación de la Reelina, Dab1 fosforilado interactúa con Lis1. Lis 1 también se une a las subunidades catalíticas de PAFAH1B1 ($\alpha 1$ y $\alpha 2$) al igual que es componente del complejo de dineína citoplasmática. Las unidades $\alpha 1$ y $\alpha 2$ también se unen al VLDLR y compiten con Dab1 para ocupar el receptor. La unión de las subunidades de PAFAH1B1 al VLDLR puede desplazar al P-Dab1 y promover su interacción con Lis1.

Se han identificado muchas mutaciones genéticas que producen alteraciones en proteínas que son importantes en el proceso de la migración neuronal. Algunas de estas proteínas controlan de forma directa el movimiento de las neuronas, por lo que su mutación va a provocar alteraciones en el desarrollo de la corteza (27).

Estas alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral van a dar lugar a distintas malformaciones del desarrollo cortical (MDC), como las que se desglosan a continuación, y van a contribuir en mayor o menor medida en otra serie de trastornos del desarrollo y trastornos paroxísticos como la epilepsia.

1.2 MALFORMACIONES DEL DESARROLLO CORTICAL

1.2.1 ETIOLOGÍA:

Las malformaciones del desarrollo cortical (MDC), comprenden un grupo heterogéneo de lesiones caracterizadas por una desorganización de la arquitectura normal de la corteza cerebral (28). Múltiples asociaciones etiológicas han sido sugeridas, genéticas, vasculares, tóxicas, infecciosas etc... (29)

En los últimos años se ha progresado en el conocimiento de genes y bases moleculares del desarrollo cortical, identificándose un gran número de defectos genéticos responsables de múltiples síndromes (30). La naturaleza de la mutación genética y el tiempo, tipo y severidad del insulto pueden determinar las características, extensión y grado de la MDC.

1.2.2 CLASIFICACIÓN:

La disrupción de los pasos necesarios para el desarrollo cortical, produce alteraciones características en el patrón normal de giros y surcos de la corteza, y el análisis de éstas ha permitido diferenciarlas en distintos grupos, primero por características clínicas y más recientemente de acuerdo al defecto genético que las produce (9).

La más utilizada es la de Barkovich et al., propuesta inicialmente en 1996 (31), con la revisión en el 2001 (32)(Tabla 2), 2005 (33), y la última del 2012 (34) (Tabla 3) que las clasifica de acuerdo al momento del desarrollo cortical en que se produce la alteración y, en la medida que se han ido describiendo más genes participantes de este proceso, también de acuerdo al defecto genético que la explica (9). La clasificación completa de A. J. Barkovich et al., 2012, se detalla en el Apéndice 1 (34)

Tabla 2: Sistema de clasificación de las malformaciones corticales, según Barkovich AJ. Neurology 2001;57:2168-78 (32)

<p>I. Malformaciones debidas a proliferación o apoptosis anormal neuronal o glial</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Disminución de proliferación/ Aumento de apoptosis: Microcefalias•B. Aumento de proliferación/ Disminución apoptosis (tipos celulares normales): Megalencefalias•C. Proliferación anormal (tipos celulares anormales)
<p>II. Malformaciones debidas a migración neuronal anormal</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Espectro lisencefalia/ banda de heterotopia subcortical•B. Complejo en empedrado•C. Heterotopia
<p>III. Malformaciones debido a organización cortical anormal (incluye migración neuronal tardía)</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Polimicrogiria (PMG) y esquizecefalia•B. Displasia cortical sin células globosas
<p>IV. Malformaciones del desarrollo cortical no clasificados</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Malformaciones secundarias a Errores innatos del metabolismo•B. Otras malformaciones no clasificadas

Tabla 3: Puesta al día en 2012 de la Clasificación de malformaciones corticales. Barkovich AJ, Guerrini R, Kuzniecky RI, Jackson GD, Dobyns WB. Brain. 2012;135(5):1348–69. (34)

<p>I. Malformaciones secundarias a proliferación o apoptosis anormal neuronal o glial</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Microcefalia congénita severa (disminución de proliferación premigracional o exceso de apoptosis)•B. Megalencefalia incluyendo congénita o postnatal precoz•C. Disgenesia cortical con proliferación celular anormal pero sin neoplasia•D. Disgenesia cortical con proliferación celular anormal y neoplasia
<p>II. Malformaciones debidas a migración neuronal anormal</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Malformaciones con anomalías neuroependimales: heterotopia periventricular•B. Malformaciones debidas a migración anormal generalizada transmanto•C. Malformaciones presumiblemente debidas a migración radial tardía o tangencial anormal localizada transmanto•D. Malformaciones debidas a migración terminal anormal y déficits en la membrana limitante pial
<p>III. Malformaciones debido a desarrollo postmigracional anormal</p> <ul style="list-style-type: none">•A. Malformaciones con PMG o malformaciones corticales que parecen PMG•B. Disgenesia cortical secundaria a errores innatos del metabolismo•C. Microcefalia del desarrollo postmigracional (previamente MIC postnatal) con CC -3DS de nacimiento o mayor, cc posterior <-4DS sin evidencia de lesión cerebral

1.2.3 CLÍNICA:

Las MDC son anomalías estructurales de la corteza cerebral que se reconocen cada vez más como causa de epilepsia, retraso psicomotor, retraso mental, trastornos del neurodesarrollo y otros déficits neurológicos congénitos (35) (36) (37) .

Los cuadros clínicos asociados a las MDC son muy heterogéneos. Leventer y col. mencionaron las diferentes formas de presentación en 109 niños con MDC (38). La epilepsia fue diagnosticada en el 75% de los casos, retraso mental en 68%, trastornos motores deficitarios en 48% y otras anomalías congénitas distintas de las MDC en 18%.

Los **trastornos del neurodesarrollo** comprenden un número heterogéneo de cuadros clínicos que son sintomáticos desde las primeras etapas de la vida y que afectan a la trayectoria del desarrollo cognitivo, del lenguaje y de la conducta.

La **epilepsia** es un trastorno paroxístico que se caracteriza por la recurrencia de episodios clínicos abruptos motores, sensoriales, conductuales o de alteración de la consciencia, relacionados con una actividad eléctrica cerebral anómala (39). Al igual que otros trastornos neurológicos, la epilepsia no es una sola entidad nosológica sino que se subdivide en diversos tipos sindrómicos y enfermedades. Además, aunque el distintivo de la epilepsia son las crisis recurrentes, en una proporción significativa de niños está asociada a problemas intercríticos de la cognición, del lenguaje y de la conducta (40).

Tanto los trastornos del neurodesarrollo como las epilepsias son en su mayoría trastornos crónicos con un conjunto amplio de etiologías y de patologías, muchas de las cuales son comunes a ambos grupos de trastornos. La gravedad del deterioro y la variedad de síntomas asociados a los trastornos del neurodesarrollo o a síndromes epilépticos específicos reflejan disfunciones focales o globales, estructurales o funcionales de las redes neuronales.

Hay factores genéticos que contribuyen tanto a los trastornos del neurodesarrollo como a la epilepsia. Estos defectos genéticos pueden afectar a numerosos procesos en el desarrollo cerebral, desde el desorden molecular de los canales iónicos hasta la modificación de las pautas de neurogénesis cortical que dan lugar a malformaciones del desarrollo cortical, y productos proteínicos específicos (41) (42) (43).

Así, la revisión somera de las características clínicas y fisiopatológicas de los trastornos relacionados con las alteraciones del desarrollo cortical, se hace imprescindible para la comprensión de los objetivos que se plantean en la siguiente memoria.

1.3 EPILEPSIA

La patología convulsiva en la edad pediátrica es frecuente, siendo la epilepsia su máximo exponente. La incidencia de la epilepsia es de 45 casos/1000 habitantes, situándose en una prevalencia de 4,7-5,5% (44)

La crisis epiléptica es la manifestación clínica de una descarga anormal y excesiva de un grupo de neuronas, siendo la epilepsia a la alteración cerebral caracterizada por la predisposición permanente para generar estas crisis. (45)

Los diferentes tipos de crisis agrupados por características de presentación y recurrencia, se han clasificado en diferentes síndromes epilépticos según la semiología de los síntomas experimentados y las características de las manifestaciones convulsivas o motoras y también según los trazados electroencefalográficos específicos asociados a las conductas (46).

Etiológicamente se distinguen tres grupos, sintomático, probablemente sintomático e idiopático. La epilepsia sintomática constituye una manifestación clínica de una patología neurológica, la probablemente sintomática encierra el mismo enfoque fisiopatológico anterior, aunque no lo podemos constatar objetivamente y la idiopática está condicionada por un origen genético (44).

Centrándonos en las epilepsias secundarias a las malformaciones del desarrollo cortical (MDC), a diferencia de las epilepsias secundarias a otras lesiones del SNC, aquellas suelen manifestarse de forma más precoz, tienen un pronóstico menos favorable y tienden a afectar zonas extratemporales (28). A su vez, dentro de los diferentes tipos de MDC, las displasias corticales focales en concreto las tipo II (DCF tipo II) y las hemimegalencefalías (HMG), son las más epileptogénicas y las de más difícil control (47).

1.4 TRASTORNOS DEL NEURODESARROLLO

1.4.1 RETRASO PSICOMOTOR (RPM)

El desarrollo psicomotor (DSM) es la progresiva adquisición de habilidades que presenta el niño durante los primeros años de vida, con una variabilidad interindividual e intraindividual característica. Va a implicar diferentes áreas como son la motora gruesa y fina, la de sociabilidad, lenguaje y el área sensorial (48).

La Academia Americana de Pediatría recomienda la utilización de pruebas estandarizadas para detectar problemas de desarrollo, como los cuestionarios de desarrollo, test de cribado o escalas de desarrollo (Tabla 4) (49).

Tabla 4: Test de despistaje y escalas para valoración del DSM (50)

Prueba	Rango de edad
Tabla de desarrollo psicomotor Haizea-Llevant (Apéndice 1)	1-60 meses
Denver Developmental Screening test (DDST)	0-6 años
Inventario de Desarrollo de Gessel	1-72 meses
Escala de Brunet y Lézine	1-30 meses
Escala Bayley del Desarrollo Infantil (BSID)	1-42 meses
Escala de Uzgyris y Hunt	1-24 meses
Inventario de desarrollo de Battelle	0-8 años
Escala de McCarthy (MSCA)	2,5 – 8,5 años
Escala de inteligencia para preescolares (WPPSI)	4-6,5 años
Batería de valoración infantil K-ABC	2,5-12,5 años

El concepto de **retraso psicomotor** implica que los hitos del desarrollo aparecen más tardíamente y/o son de una cualidad no adecuada y puede abarcar una o varias áreas. Existen una serie de signos de alerta que aunque no van a suponer necesariamente patología, nos obligan a un seguimiento estrecho del paciente (50) . (Apéndice 2).

Dentro de la variabilidad del cuadro clínico de las malformaciones del desarrollo cortical, el retraso psicomotor es una manifestación casi constante. En una serie de casos publicada en Anales de Pediatría en el 2011 por Castaño de la Mota et al, de 34 pacientes con polimicrogiria, el retraso psicomotor estuvo presente en el 94,1% de los pacientes, siendo la clínica neurológica más prevalente, seguida de la microcefalia (67,6%) y la epilepsia (61,7%) (51).

1.4.2 PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL (PCI)

La PCI engloba un grupo de trastornos del desarrollo del movimiento y de la postura, no progresivos, que causan limitación en la actividad y son atribuidos a alteraciones estables que ocurren en el cerebro en desarrollo, del feto o del niño pequeño y que en aproximadamente 50% de casos el trastorno de control motor suele ir acompañado de trastornos sensoriales, cognitivos, de la comunicación, perceptivos y/o de conducta, y/o epilepsia (52).

La impresión generalizada de que la asfixia neonatal constituía la causa principal de la PCI prevaleció hasta que diferentes estudios epidemiológicos demostraron que esta asociación estaba muy por debajo de lo esperado. Dos estudios clásicos el National Collaborative Perinatal Project (NCPP), dirigido por Nelson y Ellenberg en 1986 (53) y el estudio epidemiológico de Stanley y Watson en 1985 (54), demostraron que la proporción de PCI asociada a asfixia intraparto estaba entre un 3 y un 12,7% .

Además se ha podido objetivar que más de la mitad de los niños con PCI y asfixia tienen problemas sugestivos de patología prenatal. En la actualidad el principal factor de riesgo de la PCI es la prematuridad (55) en los países sanitariamente desarrollados. Por contraste, en los países en vías de desarrollo prevalecen más la asfíxia-isquemia en fetos a término por distocia no atendida en medio hospitalario, así como las infecciones perinatales y la ictericia nuclear; los prematuros, en estas circunstancias desfavorables tienen una supervivencia mucho menor que en los países desarrollados, y por eso hay menos PCI debidas a prematuridad. Así, la incidencia anual de PCI se mantiene globalmente en el mundo en torno a 2 por cada mil nacidos vivos, lo que cambia es la proporción de las distintas formas clínicas de PCI, al ser distintas la etiologías (y las variedades de lesión cerebral), según el área geográfico-económica (56) (57).

Se ha demostrado que un elevado porcentaje de casos de PCI son debidos a factores prenatales. Dentro de este grupo, además de las causas genéticas, hay que tener en cuenta factores de riesgo maternos (infecciones, alteración de la coagulación, enfermedades autoinmunes...) y factores de riesgo fetales (gestación múltiple, retraso de crecimiento intrauterino (58)...))

Con respecto a los factores postnatales destacar las infecciones sobre todo meningitis o sepsis tempranas, intoxicaciones y traumatismos (59). Representan el 5-10% de los casos y el tipo de PCI más común, es la hemipléjica de origen vascular.

Las **clasificaciones** basadas en criterios clínicos, como el tipo de afectación (espástica (hemipléjica, dipléjica y tetrapléjica), discinética o atáxica) y la capacidad funcional (Nivel 1, niños que pueden manipular objetos fácilmente y Nivel V, los niños gravemente afectados, sin posibilidad de manipular objetos), son las más utilizadas (60).

La PCI de tipo hemipléjico, suele ser espástica y en la mayoría de los casos congénita, siendo la causa prenatal la más habitual (75%). La patogenia se puede inferir a partir de las lesiones encontradas en la neuroimagen, que suelen ser unilaterales y asimétricas, y según el momento de actuación de la noxa se clasifican en:

- a) Lesiones producidas en los 2 primeros meses de gestación: Malformaciones cerebrales, generalmente trastornos de la proliferación o migración neuronal (displasias corticales, esquizencefalia, heterotopias, hemimegalencefalia...) y lesiones encefaloclasticas precoces.
- b) Lesiones producidas en el 3º trimestre de gestación que suelen ser lesiones unilaterales o asimétricas de la sustancia blanca periventricular, debidas a hemorragias parenquimatosas o a lesiones isquémicas.
- c) Lesiones perinatales, que son córtico-subcorticales, por infarto de las arterias cerebrales principales o sus ramas o por hipoxia-hipoperfusión. Si la lesión afecta a capas más profundas, se lesionan estructuras diencefálicas (cápsula interna, tálamo, ganglios basales)
- d) Lesiones postnatales encefaloclasticas o glióticas por infartos o hemorragias principalmente en el territorio de la arteria cerebral media.

El **diagnóstico** es clínico y está basado en una historia clínica detallada. Se recomienda la realización de RMN cerebral en todos los niños con sospecha de PCI, y en función de la clínica asociada, estudios neurofisiológicos (61).

Dado que las malformaciones de la corteza cerebral se encuentran entre las condiciones fisiopatológicas que podrían dar lugar a un cuadro clínico de PCI, y que buena parte son debidas a causas genéticas o epigenéticas, es importante incluir estudios en este sentido para el despistaje etiológico de esta entidad.

1.4.3 RETRASO MENTAL (RM)

El RM es la discapacidad más frecuente en niños. Se estima que alrededor del 3% de la población presenta un cociente intelectual (CI) inferior a dos desviaciones estándar por debajo de la media (CI<70), siendo 0,5% un RM grave.

Actualmente se está reemplazando el término de RM por el discapacidad intelectual (DI). En general la DI significativa se detecta a edades tempranas, pero antes de los 5 años, se utiliza el término de retraso psicomotor (RPM) descrito anteriormente (62).

A pesar de las limitaciones del CI, se utiliza este marcador para delimitar los niveles de funcionamiento intelectual. En la tabla 5 se exponen los grados de RM según la clasificación del DSM-IV y el CIE 10.

Tabla 5: Gravedad de retardo mental. Clasificación (63)

	CI (DSM-IV)	CI (CIE-10)
Retraso mental leve	50-55 y 70	50-69
Retraso mental moderado	35-40 y 50-55	35-49
Retraso mental grave	20-25 y 35-40	20-34
Retraso mental profundo	Inferior a 20-25	Inferior a 20
RM de gravedad no especificada	Clara presunción de RM, pero no puede ser evaluada mediante test	
CI normal: entre 85-115; CI límite entre 70 y 84 (Escala de Inteligencia de Wechsler)		

Entre las **causas prenatales** hay que destacar los procesos genéticos (alteraciones cromosómicas, monogénicas...) y los adquiridos intraútero (infecciones, drogas, tóxicos, fenilcetonuria, malnutrición...). Entre las **perinatales** la encefalopatía hipóxico-isquémica, retraso del crecimiento intrauterino, hipoglucemia, hiperbilirrubinemia, infecciones...). Y como causas **postnatales**, tóxicos, enfermedades endocrinológicas, infecciones SNC, traumatismos, casi-ahogamiento, neoplasias... (64)

El **diagnóstico** del RM requiere un enfoque multidisciplinario y la utilización de diversas exploraciones complementarias: genéticas, de neuroimagen, metabólicas o neurofisiológicas, para aproximarnos a un diagnóstico completo . A pesar de los grandes avances en estas exploraciones, en un porcentaje muy elevado de casos, alrededor del 50%, no se llega al diagnóstico etiológico, por lo que es fundamental seguir indagando en este tema (65).

1.4.4 TRASTORNO DE ESPECTRO AUTISTA (TEA)

Los trastornos generalizados del desarrollo (TGD) se caracterizan por alteración de la interacción social, trastorno en el desarrollo del lenguaje (verbal y no verbal), patrones restringidos de conducta, intereses y actividades y conductas repetitivas (66).

El manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, revisado, 4^a ed. (DSM-IV-R 2000) incluye dentro de los TGD el autismo, el síndrome de Asperger, el trastorno del desarrollo no especificado, el trastorno desintegrativo y el síndrome de Rett (67), aunque la tendencia actual, como se ha publicado en el DSM V es la de incluir 3 de estos TGD, el trastorno autista, síndrome de Asperger y trastorno del desarrollo no especificado, bajo el concepto de trastorno de espectro autista (TEA), ya que guardan muchas similitudes. Aunque con variaciones en la gravedad de los síntomas, todos tienen desviaciones del desarrollo tempranas y no se conoce su base etiológica o neurobiológica y su abordaje diagnóstico es muy similar en estos tres trastornos, a diferencia del trastorno desintegrativo y el síndrome de Rett (68).

El **trastorno autista** es un síndrome caracterizado por un severo trastorno de la socialización y la comunicación, trastornos en el desarrollo del lenguaje, conductas repetitivas e intereses restringidos. El **síndrome de Asperger** presenta una alteración de la integración social, intereses restringidos y actividades repetitivas, pero a diferencia del trastorno autista no presentan retraso significativo en el desarrollo cognitivo y del lenguaje. El término **trastorno generalizado del desarrollo no especificado (TGD-NO)** se emplea para los casos con alteración incompleta de las tres áreas (69).

La prevalencia de estos trastornos es alta, en torno a 1 de cada 150 personas, con un claro predominio del sexo masculino (70).

Se han descrito múltiples etiologías y asociaciones con alteraciones genéticas con diferente pronóstico y variable expresividad clínica. En aproximadamente un 30% de los TEA se han reconocido entidades médico-neurológicas asociadas. Dichas entidades pueden tener un origen prenatal (genético, infeccioso, tóxico...), perinatal o postnatal y su identificación es muy importante, ya que permitirá dar un adecuado asesoramiento genético, conocer la posible evolución y prevenir posibles complicaciones (71).

Existen datos clínicos, neuroanatómicos, bioquímicos, neurofisiológicos y genéticos que sugieren que el autismo es un trastorno del neurodesarrollo con una clara base neurobiológica. La frecuente asociación del autismo con otros signos clínicos de disfunción neurológica, como retraso mental, epilepsia, hipotonía y/o trastornos motores, sugiere que el autismo es un trastorno derivado de una disfunción cerebral de etiología heterogénea (72).

Estudios estructurales han evidenciado alteraciones de muy distinto significado en los pacientes con autismo, como por ejemplo, megalencefalia; aumento del tamaño cerebral durante los dos primeros años de vida, disminución de neuronas y dendritas en la amígdala, el hipocampo, el área cingular anterior y el cerebelo, pérdida de células de Purkinje en el cerebelo, aumento global de sustancia blanca subcortical en autistas preescolares, proliferación glial y cambios en la estructura columnar normal de la corteza cerebral. En los últimos años, se da cada vez más importancia a la alteración estructural y funcional de las minicolumnas corticales en la génesis del autismo (73).

1.4.5 TRASTORNO POR DÉFICIT DE ATENCIÓN CON (TDAH) O SIN HIPERACTIVIDAD

Es un trastorno conductual biológico crónico caracterizado por un nivel inapropiado de atención con o sin impulsividad o hiperactividad que ocurre en diversos ámbitos, causa impedimento funcional y no puede ser atribuido a otra enfermedad (74). Afecta a entre el 6 y el 9% de la población escolar (75).

Los criterios diagnósticos y los diversos fenotipos clínicos de los TDAH se clasificarán de acuerdo al Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales de la Academia Americana de Psiquiatría, 5ª edición (DSM-V).

Para considerar que un niño puede padecer TDAH sus síntomas deben haber comenzado antes de los 12 años, con una persistencia de más de 6 meses y deben estar presentes por lo menos en dos ámbitos- por ejemplo, el hogar y la escuela- y su severidad debe ser tan importante como para comprometer su funcionamiento social y escolar (76).

Se trata de un trastorno multifactorial con una base neurobiológica y predisposición genética que interactúa con factores ambientales. Las hipótesis sobre la etiología abarcan diversas áreas: genética conductual y molecular, factores biológicos adquiridos, la neuroanatomía, bioquímica cerebral, neurofisiología, neuropsicología y el entorno psicosocial.

Con respecto a los factores neuroanatómicos las técnicas de imagen cerebral muestran déficits estructurales y funcionales en el córtex frontal dorsolateral e inferior, el cíngulo anterior y regiones parietotemporales y cerebelares. También se han observado alteraciones en áreas del circuito de procesamiento de la recompensa, como el estriado ventral y la amígdala (77).

A pesar de lo publicado hasta la fecha con respecto a la importancia del factor neuroanatómico en la etiopatogenia del TDAH, no se encuentra descrita en la literatura actual la asociación clara entre las MDC y el TDAH en concreto.

El diagnóstico de TDAH es eminentemente clínico, pero la evaluación neuropsicológica a través de técnicas estandarizadas permitirá conocer mejor el perfil neurocognitivo y planificar más efectivamente el abordaje terapéutico (78).

1.4.6 TRASTORNO DEL APRENDIZAJE (TA)

Los TA son una de las causas más frecuentes de mal rendimiento y fracaso escolar y tienen una prevalencia del 5-15% de la población escolar (79).

Son disfunciones cerebrales en áreas específicas del rendimiento cognitivo cuyo resultado es una dificultad desproporcionada e inesperada para un aprendizaje concreto al compararla con el resto de habilidades y la capacidad intelectual del niño. Se suelen manifestar en los primeros años de escolaridad, y van a interferir en el aprendizaje del lenguaje oral, escrito, del cálculo matemático, de la grafomotricidad... (80).

Los TA son una manifestación clínica de las MDC. En una revisión de 21 casos de MDC que presentaban polimicrogiria (43%), heterotopias (33%), displasia de hipocampo (24%), agiria-paquigiria (14%), hemimegaencefalia (5%), cursaron con epilepsia el 90%, retraso mental 68%, parálisis cerebral 47%, S.West 40%, microcefalia 25%, autismo 10%, hiperquinesia 5% y TA sin RM el 33% (81).

1.4.7 TRASTORNO DEL LENGUAJE

Según varios estudios epidemiológicos, entre ellos el de Narbona, 2001(82), el desarrollo del lenguaje está retrasado en 100-140 de cada 1000 niños preescolares. 2/3 de estos retrasos están en el límite de la variabilidad normal (retraso articulatorio y retraso simple del lenguaje), y van a compensarse espontáneamente o con ayuda educativa. A partir de los 6-7 años, quedarían 40 de cada 1000 niños con trastornos permanentes del lenguaje de diversa naturaleza. De ellos 22 padecen RM y/o TEA; 3 déficit severo de la audición o trastorno del aparato fonarticulatorio y 15 de cada 1000, padecen un trastorno específico del lenguaje (TEL) (83).

Podemos clasificar los trastornos del lenguaje en el niño en 3 categorías (84):

- 1) Trastornos relacionados con déficits instrumentales (audición y mecánica fonarticulatoria).
- 2) En el contexto de déficits o trastornos psicopatológicos como el TEA (85), RM, privación afectiva y educacional extremas y mutismo selectivo.
- 3) En patología propia del habla y del lenguaje: Trastorno benigno del lenguaje y retraso articulatorio (dislalia), trastorno del ritmo y de la fluencia (tartamudeo), trastornos específicos del desarrollo del lenguaje y afasias durante el desarrollo, por lesión hemisférica perisilviana izquierda adquirida y por encefalopatía epiléptica: Síndrome de Landau-Kleffner (86). Con respecto a esta última entidad, Blum et al, a propósito de 1 caso de síndrome de Landau-Kleffner con displasia cortical focal temporal lateral y esclerosis hipocampal, con 30 años de seguimiento, concluyen que la presencia de convulsiones puede conducir a la evolución de esclerosis mesial temporal, configurando patología dual, donde la microdisgenesia cortical focal puede ser la causa del síndrome de Landau-Kleffner (87).

1.4.8 TRASTORNOS DEL COMPORTAMIENTO EN NIÑOS

Los problemas de comportamiento disruptivo constituyen un motivo de consulta cada vez más frecuente en la población infantojuvenil y una causa de preocupación creciente entre padres y profesores. Este comportamiento puede ser un síntoma manifiesto de un grupo variado de patologías incluidas en un espectro impulsivo-agresivo, o constituir un trastorno en si mismo como el trastorno oposicionista desafiante (TOD) o el trastorno disocial o de conducta propiamente dicho (88).

Los trastornos de comportamiento son una de las manifestaciones clínicas de las MDC. En una revisión de 36 pacientes con diagnóstico de MDC en una consulta de Neuropediatría de la Liga Central contra la Epilepsia en Bogotá desde el 1 de enero al 30 de junio de 2011, se encontraron alteraciones conductuales significativas y que requirieron tratamiento, en 8 pacientes, todos con alteración cognitiva, sin encontrar diferencias entre los distintos tipos de MDC (89).

En una serie de 34 pacientes del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid, entre 1995 y 2010, presentaron alteraciones conductuales el 38,2% (51).

La práctica totalidad de las situaciones clínicas descritas muestran alteraciones o malformaciones de la estructura de la corteza cerebral. Entre las distintas causas que pueden llevar a ello se encuentran los trastornos genéticos. Más de 200 genes se han implicado en la correcta estructuración de la corteza cerebral. Aquellos genes relacionados con la Región Crítica de la Lisencefalia, especialmente lábiles ante la acción de factores ambientales como las radiaciones ionizantes entre otros, han mostrado un papel muy prevalente en el desarrollo de estas alteraciones estructurales. Entre ellos destaca en gen LIS1, cuyo estudio de prevalencia se encuentra en el nudo del presente trabajo.

1.5 LIS1:

Por lo tanto, dada la relevancia que el gen *LIS1* ha adquirido en la explicación de las alteraciones estructurales de la corteza cerebral, centramos el presente estudio principalmente en su estructura y funciones.

1.5.1 CONCEPTO:

El gen *LIS 1* es el primer gen identificado como participe en problemas de la migración neuronal, siendo imprescindible para múltiples aspectos del desarrollo de la corteza cerebral (90). Delecciones en este gen son causantes de malformaciones cerebrales severas como la lisencefalia, de hecho fue descrito como el gen cuyas mutaciones producían el Síndrome de Miller Dieker o lisenceflia tipo I, tal y como refieren Dobyns et al. en 1993 (91) y Reiner et al. en 1995 (92) , mientras que duplicaciones del mismo se han asociado entre otras patologías, al retraso psicomotor (90).

1.5.2 ESTRUCTURA:

El gen *LIS1* se encuentra en la banda p13.3 del brazo corto del cromosoma 17. Contiene 13 exones (regiones codificantes del gen y que se transcriben en ARN, separadas por trozos de ADN no codificantes y que no son transcritos al ARN). En el Exón 13 se analizan 4 microsatélites, que son secuencias de ADN repetitivas en tandem de un mismo patrón de nucleótidos (Figura 10).

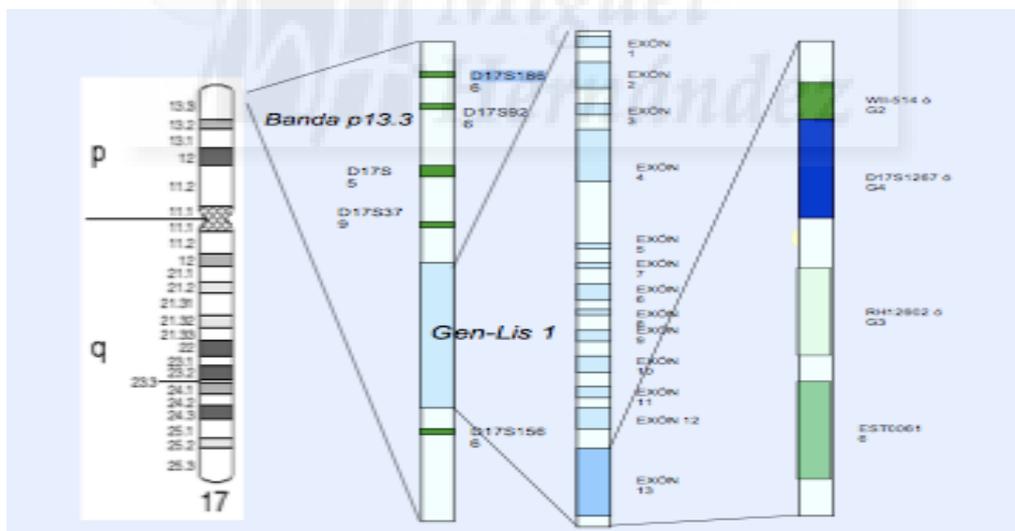


Figura 10: Estructura del gen *LIS 1*. F. Carratalá Marco, 2008

El gen *LIS1*, está situado en una región que contiene de forma contigua otros genes implicados funcionalmente en el desarrollo de la estructura de la corteza cerebral, que ha sido denominada Región Crítica de la Lisencefalia (RCL).

1.5.3 FUNCIÓN:

En los últimos años se ha estudiado de forma significativa los mecanismos de actuación de este gen tanto en el desarrollo cerebral normal como en situaciones patológicas (93).

Entre sus funciones destaca la regulación de la dineína plasmática y su influencia en la función de los microtúbulos, como ya han descrito en 2006 Wynshaw-Boris (94) y dos años después en 2008, Yingling et al. (95).

Se sabe que el gen *LISI* está implicado en los procesos de proliferación de los precursores neurales durante el desarrollo temprano del cerebro, actuando mediante la regulación de la orientación del eje mitótico de las células neuroepiteliales (95).

Este proceso es determinante para el patrón de producción de neuronas en cada región del encéfalo, regulando tanto el tipo de neuronas que se producen como el número. Esto es interesante para entender el desarrollo posterior de la estructura del cerebro, en general, y la corteza cerebral, en particular; ya que empiezan a publicarse evidencias que muestran como diferentes tipos de células neurales se generan a partir de poblaciones de precursores localizadas en regiones precisas del neuroepitelio (Spassky et al., 1998 (96); 2005 (11); Olivier et al., 2001 (97); Cobos et al., 2001 (98); Flames et al., 2007 (99); Fogarty et al., 2007 (100); Delaunay et al., 2009).

Lo dicho implica que la especificación de estos precursores es un fenómeno precoz del desarrollo, lo que conlleva el que las células neurales (neuronales y glía) han de desarrollar movimientos migratorios complejos para llegar a sus destinos específicos en el parénquima cerebral, donde madurarán estructural y funcionalmente (101). También se ha implicado al gen *LISI* en estos procesos de migración (Figura 11) de células neurales, manifestándose sobre todo en la corteza cerebral (21), (102).

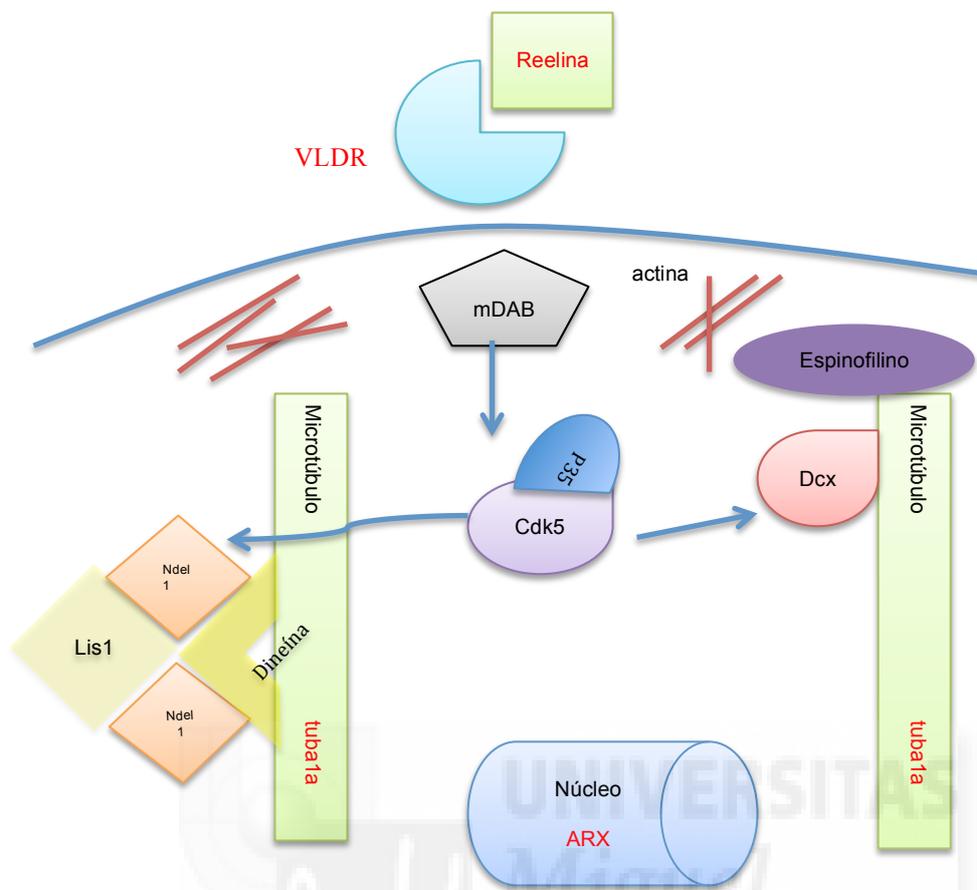


Figura 11: Diagrama simplificado que describe la relación conocida de las proteínas en la migración neuronal de ratones y humanos. Imagen adaptada de Liu JS et al, 2014 [Neuronal migration signaling pathways] (102) (103)

En rojo, las proteínas de los genes correspondientes que se han asociado a lisencefalia en humanos (reelina, VLDR, Dcx, Lis1 y ARX (factor de transcripción)). La señal de la Reelina activa la vía kinasa. Cdk5 regula la unión de Dcx con el microtúbulo y el ensamblaje del complejo Lis1/dineína, incluyendo NDEL1, NDE1 y 14-3-3. Dcx interactúa con los microtúbulos al mismo tiempo que con la vía actina/spinophilin y quizás también actúa como mediador en la interacción actina/tubulina (102).

Por lo tanto, el gen *LISI* regula el desarrollo de la corteza cerebral actuando sobre dos procesos, la proliferación de progenitores neuronales y la migración de las neuronas a las capas corticales. Estos procesos tienen que ver con la determinación de la ruta diferenciadora de las neuronas y su maduración funcional, respectivamente. Las mutaciones del gen *LISI*, así como de la región cromosómica en la que se encuentra, la RCL, producen diferentes grados de alteración del desarrollo de la corteza cerebral, que se pueden manifestar como diferentes tipos de anomalías congénitas (90).

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



2 JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN:

Dado el papel que tiene la Región Crítica de la Lisencefalia (RCL), y en concreto el gen *LIS1* en las malformaciones del desarrollo cortical, nos preguntamos si se podría hacer una aproximación de la prevalencia real de las alteraciones en dicha región, en un grupo determinado de pacientes que presentan retraso psicomotor y/o epilepsia con alteraciones en la neuroimagen y un grupo de control.

Existen algunas series en las que las mutaciones de ésta región, se han relacionado con malformaciones corticales encontradas en estudios de neuroimagen (103), pero no en bases epidemiológicas o de determinación de eficacia de la prueba diagnóstica.

Por esta razón nos preguntamos en qué medida, mutaciones de la RCL, pueden explicar la presencia de malformaciones del SNC, cuando se comparan con un grupo control.

Para contestar esta pregunta nos planteamos las siguientes hipótesis.

2.2 HIPÓTESIS:

HIPÓTESIS VÁLIDA: La prevalencia de anomalías en el gen *LIS 1*, en pacientes con retraso psicomotor y/o epilepsia que además muestran alteraciones estructurales en la RM es superior a la de la población general.

HIPÓTESIS NULA: No existen diferencias con respecto a las anomalías del gen *LIS1* entre los pacientes que tienen patología neuropediátrica y la población general.

Para rechazar y validar estas hipótesis nos planteamos los siguientes objetivos:

2.3 OBJETIVOS:

1. Estudiar la prevalencia de anomalías en la RCL en pacientes con retraso psicomotor y/o epilepsia con alteraciones estructurales del SNC.
2. Estudiar la prevalencia de anomalías en la RCL en un grupo control de pacientes.
3. Comparar la presencia de mutaciones de la RCL en pacientes con retraso psicomotor y/o epilepsia con anomalías estructurales del Sistema Nervioso Central en relación a un grupo control de pacientes sanos y estudiar la diferente prevalencia entre ambos.
4. Determinar que hallazgos clínicos se asocian con una determinada alteración en de la RCL y compararla con un grupo de casos que no presenta dicha alteración.
5. Describir las alteraciones estructurales detectadas en la neuroimagen que más a menudo presentan los pacientes en función de las alteraciones genéticas halladas y compararlas con un grupo control que no presenta las alteraciones genéticas aquí estudiadas.

3. PACIENTES Y MÉTODOS



3 PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DEL ESTUDIO:

Unidad de referencia de Neuropediatría de un área sanitaria de la provincia de Alicante, departamento 17. Dicho departamento está constituido por 9 centros de salud: Santa Faz, Gerona, Pla Hospital, Juan XXIII, Cabo de las Huertas, Mutxamel, El Campello, San Juan y Jijona.

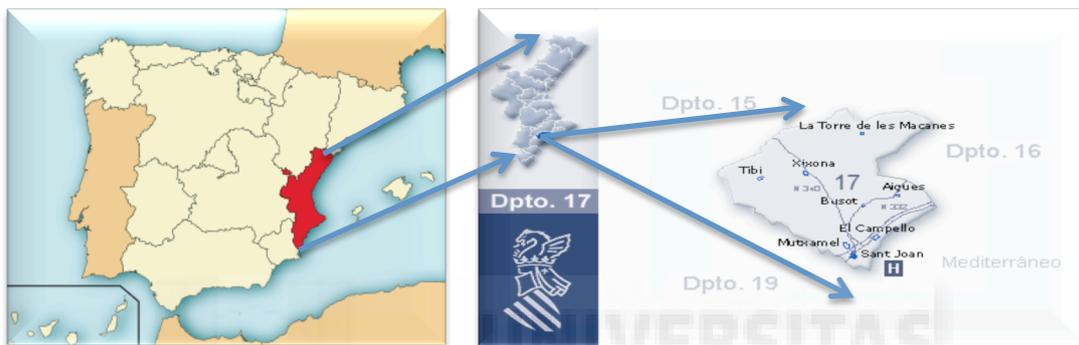


Figura 12: Departamento 17 de la provincia de Alicante

La población pediátrica por debajo de 15 años en dicha área de salud en 2015, es de 33,731 niños.

Los estudios genéticos se realizaron en el Instituto de Neurociencias de Alicante, sito en le Campus Universitario de San Juan de la Universidad Miguel Hernández de Elche (Alicante)

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO:

Se desarrolla un **estudio observacional de casos y controles**¹

3.3 PERIODO

Desde marzo de 2006 hasta diciembre de 2013

¹ Siguiendo la normativa vigente de los CEIC para los estudios observacionales

3.4 POBLACIÓN:

3.4.1 GRUPO DE CASOS:

Se formó de 115 pacientes (81 niños y 34 niñas) que estaban en seguimiento en nuestra Unidad de Neuropediatría por retraso psicomotor y/o epilepsia y los que llegaron de forma consecutiva a nuestra unidad, remitidos por dichos motivos que requerían de la realización de un estudio de neuroimagen y que cumplían los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- **Criterios de Inclusión:**
 - a) Retraso psicomotor, establecido por los centros de atención primaria sanitarios o escolares y confirmados por el personal de la Unidad de Neuropediatría del Centro de Referencia, en base a escalas normalizadas del Denver developmental screening test; Bailey scales of infant development y WISC-R para niños incluyendo retraso mental y trastorno motores aislados no evolutivos, así como diagnósticos de parálisis cerebral.
 - b) Epilepsia o síndrome epiléptico con o sin signos de afectación encefalopática.
 - b) Alteraciones estructurales en el estudio de RMN que no indiquen un trastorno asociado a otra etiología conocida.
 - c) Necesidad de realización de una analítica de sangre por motivos rutinarios

- **Criterios de exclusión:**
 - a) Causa adquirida demostrable por la historia.
 - b) Diagnóstico previo sindrómico confirmado por genética.
 - c) Trastorno dismorfológico asociado a enfermedad metabólica o degenerativa.
 - d) Aparición de cualquiera de estos criterios durante la realización del estudio genético.

Aplicados estos criterios quedaron 99 pacientes susceptibles de ser incluidos en el estudio (72 niños y 27 niñas).

3.4.2 GRUPO DE CONTROLES:

Se formó con 400 pacientes de todas las edades, de entre 23-45 años, que aportaron voluntariamente su muestra sanguínea y que tenían los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- **Criterios de Inclusión:**

- a) Aceptar voluntariamente la donación de la muestra de sangre.
- b) Historia de salud normal.

- **Criterios de Exclusión:**

- a) Padecer algún tipo de trastorno motor asociado o no a trastorno cognitivo.
- b) Haber presentado algún tipo de trastorno paroxístico de probable origen epiléptico.

3.5 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:

Se propuso a los padres de los pacientes incluidos en el estudio, y que necesitaban de la realización de una venopunción para la obtención de una muestra sanguínea para complementar sus estudios rutinarios, que se realizara a su vez, la prueba del análisis del gen *LISI*, RCL y otros genes relacionados. Se les informó del objetivo del estudio y de la cantidad de muestra sanguínea que se requería, 2 mL contenidos en tubo EDTA, que los padres aportarían voluntariamente al laboratorio del Instituto de Neurociencias donde se practicaría dicho estudio, aclarándoles previamente que el significado de los resultados estaba todavía pendiente de validación por la comunidad científica (Figura 13).

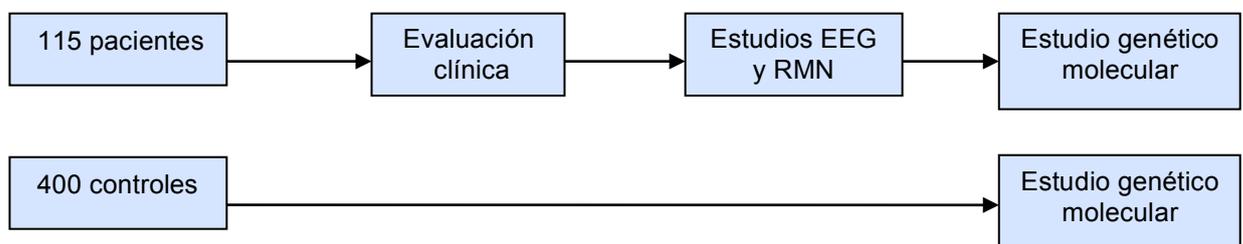


Figura 13: Resumen esquemático del estudio

3.6 RECOGIDA DE DATOS CLÍNICOS:

Se efectúa de forma prospectiva, y se van incluyendo en un registro informático, las siguientes variables, de acuerdo a la normativa vigente de la ley de protección de datos.

- Sexo
- Fecha de nacimiento y fecha de la realización del estudio genético
- Existencia o no de alteración genética, descripción y clasificación
- Motivo de derivación a la Consulta de Neuropediatría
- Antecedentes personales y perinatales de interés
- Clínica del paciente y diagnósticos definitivos
- Presencia o no de alteración del desarrollo psicomotor (DSM)
- Presencia o no de epilepsia, incluyendo tipo de crisis, características del EEG, edad de inicio y número de fármacos necesarios para su manejo
- Presencia o no de clínica característica de TEA y/o TDAH.
- Resultado de Resonancia Magnética Nuclear Cerebral (RMN)
- Otras pruebas complementarias realizadas (Apéndice 4)

En la recogida de datos, con respecto a la clínica, se categorizaron por la presencia de cinco cuadros clínicos principales: Retraso mental leve (RM leve), retraso mental moderado-grave (RM mod-grave), retraso motor (PCI), trastorno de conducta (Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH) y Trastorno de Espectro Autista (TEA)) y epilepsia.

Los resultados de la RMN se distribuyeron en las siguientes categorías de diagnóstico descriptivo: Dilatación-alteración ventricular (AV) (bilateral, izquierda y derecha), presencia de lesiones focales (AF) (bilateral, izquierda y derecha), presencia de atrofia córtico-subcortical (ACS) bilateral, lisencefalia, anomalías de la línea media (ALM), alteraciones de la sustancia blanca (ASB) y alteraciones a nivel de fosa posterior (AFP)

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Estudios de tabla de doble entrada con el módulo “Statcalc” de Epiinfo 7.2.1, en el que se analiza el estadístico χ^2 y estudio de Odds Ratio (Razón de riesgo).

3.8 ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR:

El estudio genético se realizó secuencialmente mediante técnicas de PCR, con utilización de sondas comerciales para las regiones críticas de la lisencefalia.

Se estudian 635 kb de la región genómica localizada en la Región Crítica de la Lisencefalia 34 en 17p13.3, incluyendo el gen *LIS*.

A continuación se desglosan los pormenores de este análisis genético:

3.8.1 METODOLOGÍA

La PCR (polimerase chain reaction, por sus siglas en inglés), es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica del ADN, utilizando la actividad de la enzima ADN polimerasa. Si usamos como sustrato ADN genómico, hablamos de PCR y si usamos ADN complementario (ADNc), se le conoce como RT-PCR (*Reverse Transcription-PCR*, por sus siglas en inglés). Los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN o ADNc), la enzima, los oligo-nucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg^{+}), una solución amortiguadora o buffer y H_2O . Todos estos elementos interactúan en tres etapas principales de las que se compone la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión. (Figura 14) (104).

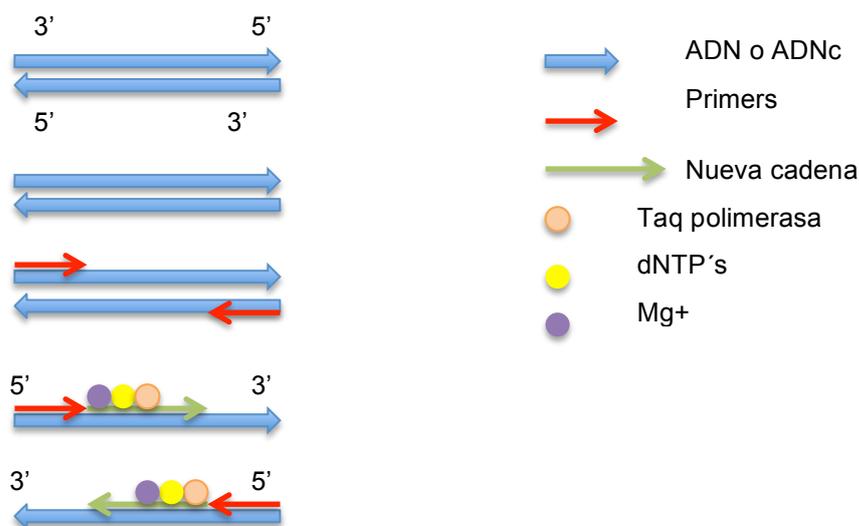


Figura 14: Pasos de un ciclo de PCR. Imagen adaptada de Tamay de Dios et al (105)

En nuestro trabajo todos los casos fueron procesados a la vez. En todos ellos se efectuó un **análisis secuencial mediante PCR** de 40-100 ng de **ADN** contenido en un volumen total de 15 µl (ADN genómico extraído de 200 µl de sangre utilizando Qiagen kit protocol, QIAamp DNA Blood Mini Kit; Qiagen, Stanford, CA, USA), o de **ADNc** obtenido tras transcripción inversa desde RNAm extraído de los linfocitos de 200 µl de sangre usando el protocolo TRIZOL (TRIZOL reagent, Gibco BRL, U.S. patent no. 5.346.994), 12,5 pM de cada primer o cebador, 125 µM de cada dNPT y 0,5 U de polimerasa Taq (Sigma Genomic *Taq* polymerase), en un solución amortiguadora o buffer compuesta de 50 mM de KCl, 2mM MgCl₂ y 10 mM de Tris. Las reacciones se repitieron al menos 5 veces con cada primer o cebador (4)

En la siguiente tabla se muestran las condiciones de PCR.

Tabla 6: Condiciones de PCR (5)

Tm	Markers
54 °C	ALFA1
58 °C	HLIS1, LIS1
60 °C	WI-7771, SHGC-74513, RH104513, GDB: 455460, D17S1566, D17S22, HLIS3, HLIS5, HLIS7, HLIS8
61 °C	D17S850E, RH12602, WI-15104, D17S1267, RH18271, RH46116, A002039, G19939, RH70243, RH65106
62 °C	D17S379, RH71329, NIB1825, STS-AA011180, PTAFR, HLIS2, HLIS4, HLIS6, ALFA2

Las condiciones de amplificación del ciclo de temperatura, consisten en una desnaturalización inicial a 94°C durante dos minutos, seguido de 35 ciclos a 94 °C, durante 45s, hasta conseguir una temperatura específica (Tm) para cada marcador durante 1 minuto, extensión a 72 °C durante una minuto; y finalmente un paso de elongación a 72 °C durante 10 minutos

3.8.2 MARCADORES ANALIZADOS (Tabla 7)

En este trabajo se analizan 635 kb de la **región genómica** localizada en la Región Crítica de la Lisencefalia 34 en 17p13.3, incluyendo el **gen LIS1**.

Más específicamente se analizan cuatro marcadores intragénicos específicos de *LIS1*: D17S850E, RH12602, WI-15114 y el D17S1267.

Además se estudian tres microsatélites relacionados con *LIS1*, el D17S1566, D17S22 y el D17S379, añadiendo el microsatélite D17S1866, localizado en la región genómica del cromosoma 17p13.3, correspondiente al gen *RPH3AL* (Figura 15 y 16)

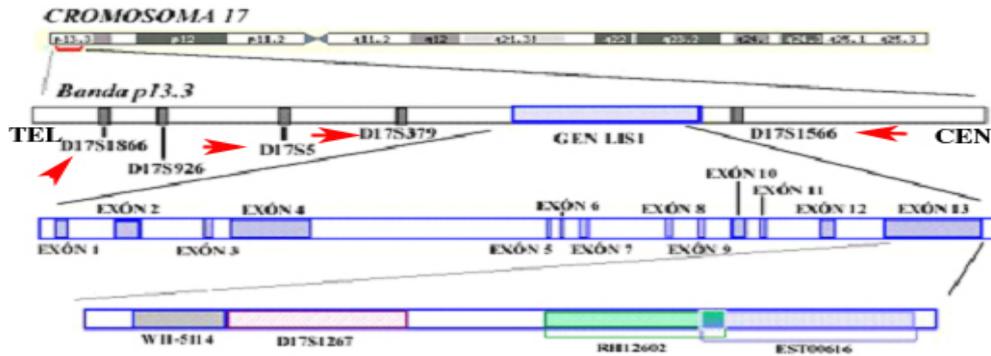


Figura 15: Se representa la región genómica de 635 kb localizada en la RCL en 17p13.3, incluyendo el gen *LIS1* con los cuatro marcadores intragénicos que se analizan D17S850E, RH12602, WI-15114 y el D17S1267; y también la localización de los marcadores D17S1566, D17S22 (D17S5), D17S379 y el D17S1866

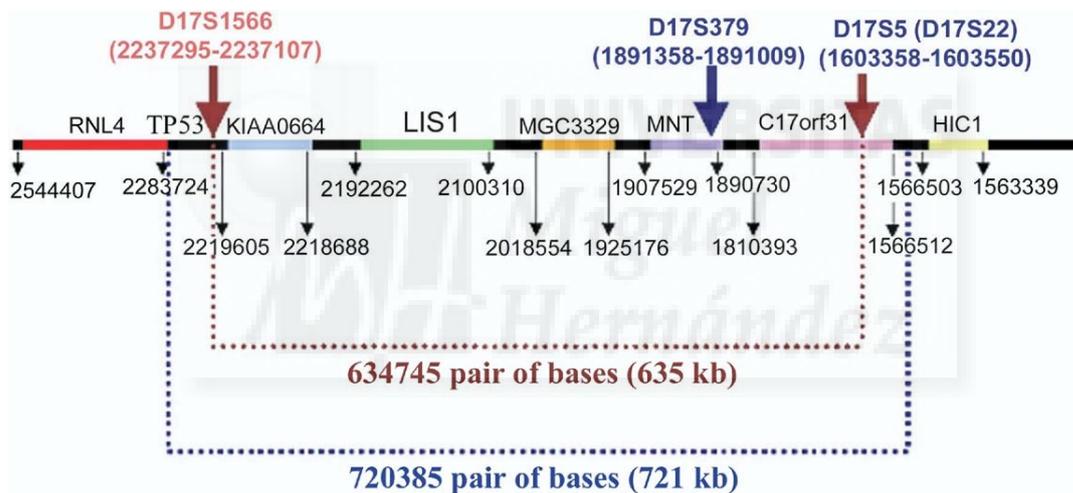


Figura 16: Esquema de la RCL localizado en el cromosoma 17p13.3. Representa la región genómica de 635 kb localizada en la RCL en 17p13.3, incluyendo el gen *LIS1*. Se representa también en el esquema la localización de los marcadores D17S1566, D17S22 y D17S379 (5)

Igualmente se procedió a investigar si había variaciones genéticas de splicing (empalme) en el RNAm del gen *LIS1* mediante el estudio de sus secuencias de codificación por RT-PCR, utilizando primers adecuados que fueron diseñados de acuerdo a secuencias conocidas de nucleótidos. Es decir se analizó la región codificante de *LIS1* buscando alteraciones en la transcripción, usando los siguientes marcadores: HLIS1, HLIS2, HLIS3, HLIS4, HLIS5, HLIS6, HLIS7, HLIS8 y LIS1. (Figura 17) (Tabla7)

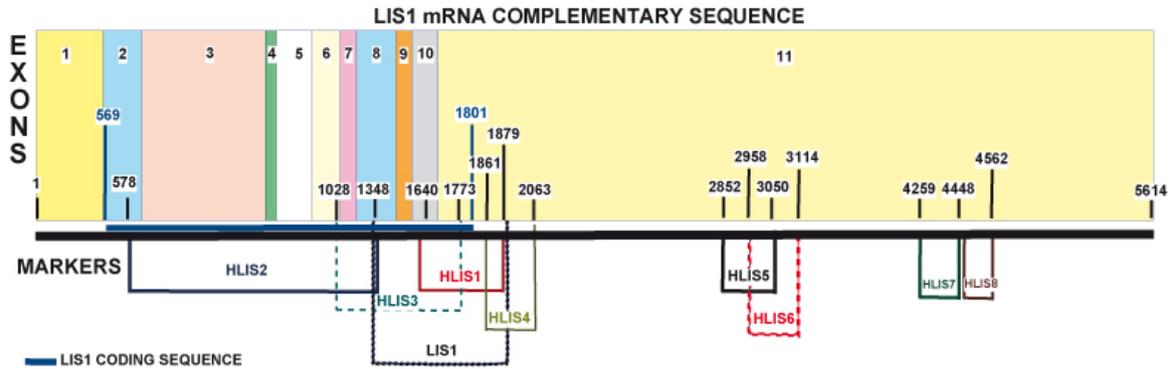


Figura 17: Región complementaria del gen LIS1

Tabla 7: Marcadores analizados del gen LIS1

Marker	GenBank accession number	Position (bp)	Primers	PCR product size (bp)
<i>LIS1</i> gene				
D17S850E	UniSTS:3456 M78468	2795104–2795301	F-primer: 5'-AACTGTTTTCTCAATTACCACTTC-3' R-primer: 5'-GCCITTTTATCTTCCCACTGTATC-3'	197
RH12602	UniSTS:41394	2794600–2794768	F-primer: 5'-GAAACAGAAAGAGGCGAACG-3' R-primer: 5'-TGTGACCAATGGTGTGCC-3'	169
WI-15114	UniSTS:25888 G24667 H29572	2792533–2792682	F-primer: 5'-CAGATTCATGTTGAAAAACAACT-3' R-primer: 5'-TGTGTCATGGTACAAATCACTATTC-3'	150
D17S1267	UniSTS:149804	2792624–2792747	F-primer: 5'-GCACGCTCCATTAAACCCTG-3' R-primer: 5'-GTGTGCCCATTTGAAACGAGTG-3'	120
D17S1566	UniSTS:151857	2840324–2840512	F-primer: 5'-AAAGATCCTTATTGCCACTTTACTG-3' R-primer: 5'-CTCTTACCTTGCTGGTGAGATTG-3'	179
D17S22	UniSTS:146906	2206575–2206767	F-primer: 5'-GCCTACCTTCCACAAATCTTTC-3' R-primer: 5'-TTGCTGGAGGGATACCTGTGTAC-3'	194
D17S379	UniSTS:146907	2632272–2632430	F-primer: 5'-GTTGGAACAGAACTATGAATAAC-3' R-primer: 5'-CCTAACTGAATGACATGGAGGAC-3'	160
HLIS1	Coding region	1627–1866	F-primer: 5'-GAT GAC AAG ACC CTA CGC GT-3' R-primer: 5'-AGA GCT CAA TGG GGT AAC CA-3'	250
HLIS2	Coding region	565–1345	F-primer: 5'-TCC CAG AGA CAA CGA GAT GA-3' R-primer: 5'-CTA CGA CCC ATA CAC GCA CA-3'	781
HLIS3	Coding region	1015–1760	F-primer: 5'-CAG GAC ATT TCA TTC GAC CA-3' R-primer: 5'-TGA TCT ACG CTG CCA GTG AC-3'	746
HLIS4	Coding region	1848–2050	F-primer: 5'-GGT TAC CCC ATT GAG CTC TG-3' R-primer: 5'-TTC TTA GGC CTG GTG TGA CC-3'	203
HLIS5	Coding region	2839–3037	F-primer: 5'-TGG AGC GTG CAT AAA AAT GT-3' R-primer: 5'-CTA AAG CAT GGC ATT CCA CA-3'	199
HLIS6	Coding region	2945–3131	F-primer: 5'-CAC ATC AAC CTC CAT GTC CTT-3' R-primer: 5'-GAC GGG GAC ATA ACG GAA GT-3'	190
HLIS7	Coding region	4245–4443	F-primer: 5'-TTG CAA AAT TTC CTG CAC TG-3' R-primer: 5'-TGA CAA AGC AGC AGT GAA CC-3'	190
HLIS8	Coding region	4343–4548	F-primer: 5'-GCC TGG GAT AAG GAC AAT GA-3' R-primer: 5'-ATA TTT GGG TGG CAC TGG AA-3'	206
LIS1	Coding region	1335–1866	F-primer: 5'-ATG GGT CGT AGC AAC AAG G-3' R-primer: 5'-AGA GTC CAA TGG GGT AAC CA-3'	498

Y por último se añaden al estudio otros genes relacionados funcionalmente con el gen *LIS1*, el *PAFAH1B2*, *PAFAH1B3* y el *PTAFR*; otros genes de la RCL, *YWHAE*, *TUSC5*, *MYOIC* y *CRK* y por último otros que se han implicado en el neurodesarrollo *FGF8*, *PAX6* e *EN2*. En éstos últimos el análisis que se realizó fue tan solo genómico, y no genómico y transcriptómico como en el caso del gen *LIS1*.

A modo de esquema y para facilitar el análisis posterior, se realiza una clasificación en 3 grupos en función de los marcadores analizados:

1. Región genómica

- **MICROSATÉLITE D17S1866**, localizado en la región genómica del cromosoma 17p13.3, correspondiente al gen *RPH3AL* (rabphilin 3A-like), localizado entre las bases 62,297 - 202,576 del cromosoma 17 (MIM: 604881; GeneID: 9501).

- **REGIÓN CRÍTICA DE LA LISENCEFALIA:**
 - o **MICROSATELITES**
 - **D17S1566** (bases 2840324-2840512)
 - **D17S379** (bases 2632272-2632430)
 - **D17S5** (D17S22, bases 2206575-2206767)

 - o **GEN *LIS1* (PAFAH1B1):** platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform Ib, subunit 1 (45kDa)
 - **WI-15114** (bases 2792533-2792682 de la secuencia genómica y 2647-2796 del mRNA, exón 11)
 - **D17S1267** (bases 2792624-2792747 de la secuencia genómica y 2738-2861 del mRNA, exón 11)
 - **RH12602** (bases 2794600-2794768 de la secuencia genómica y 4714-4882 del mRNA, exón 11)
 - **D17S850E** (bases 2795104-2795301 de la secuencia genómica y 5218-5415 del mRNA, exón 11)

2. Región complementaria del gen *LIS1* (Tras estudio transcriptómico del gen LIS1)

HLIS1: 1627-1866

HLIS7: 4245-4443

HLIS2: 565-1345

HLIS5: 2839-3037

HLIS8: 4343-4548

HLIS3: 1015-1760

HLIS6: 2945-3131

LIS1: 1335-1866

HLIS4: 1848-2050

3. Otros genes analizados

- **Otros genes funcionalmente relacionados con lis1**

- **PAFAH1B2**: platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform Ib, subunit 2 (30kDa), locus 11q23 (bases 117015040.-117038814; **MIM**: 602508; **GeneID**: 5049).
- **PAFAH1B3**: platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform Ib, subunit 3 (29kDa), locus 19q13.19 (bases 42801185.-42806723; **MIM**: 603074; **GeneID**: 5050).
- **PTAFR**: platelet-activating factor receptor, LOCUS 1p35-p34.3 (bases 28475838.-28503191, **MIM**: 173393; **GeneID**: 5724).

- **Otros genes de la Región Crítica de la Lisencefalia**

- **YWHAE**: tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon polypeptide , locus 17p13.3 (bases 1247834-1303556; **MIM**: 605066; **GeneID**: 7531).
- **TUSC5**: tumor suppressor candidate 5, locus 17p13.3 (bases 1182957-1204281; **MIM**: 612211; **GeneID**: 286753).
- **MYO1C**: myosin IC, locus 17p13.3 (bases 1367480-1396001; **MIM**: 606538; **GeneID**: 4641)
- **CRK**: v-crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian), locus 17p13.3 (bases 1325440-1359544; **MIM**: 164762; **GeneID**: 1398).

- **Otros genes implicados en el neurodesarrollo**

- **FGF8**: fibroblast growth factor 8 (androgen-induced), locus 10q24 (bases 103529887-103535827; **MIM**: 600483; **GeneID**: 2253).
- **PAX6**: paired box 6, locus 11p13 (bases 31806340-31839509; **MIM**: 607108; **GeneID**: 5080).
- **EN2**: engrailed homeobox 2, locus 7q36 (bases 155250824-155257526; **MIM**: 131310; **GeneID**: 2020)

3.9 LIMITACIONES DEL ESTUDIO:

En primer lugar el tamaño muestral, que al no ser muy amplio va a limitar el poder estadístico.

El tipo de fuente de los sujetos de estudio (consulta hospitalaria de especialidad terciaria) produce sesgos de método que implica que no se deban aplicar las estimaciones de la tabla de doble entrada a los análisis del valor predictivo positivo.

Por otra parte, el que los controles se estableciesen entre sanos, y que no se encontrase ninguno con mutación ($n=0$) implicó que no se pudiese efectuar un estudio de OR y que se tuviese que asumir para ello la presencia de un falso positivo en la serie.



4. RESULTADOS



4 RESULTADOS

De los 115 pacientes estudiados (81 niños y 34 niñas), en 16 casos (10 niños y siete niñas), una vez realizado el estudio genético, no se cumplieron los criterios de inclusión y/o aparecieron criterios de exclusión:

En cinco casos (tres niños y dos niñas) fue por asfixia perinatal moderada-severa no reportada al inicio del estudio. Dos niñas y un niño, presentaron malformaciones cerebrales y extracerebrales complejas, en una niña se identificó un síndrome de Pallister-Killian, en la otra un síndrome de Wolf-Hirschhorn y en el niño trisomía del cromosoma 18 (Síndrome de Edwards). En dos casos más se hallaron mutaciones genéticas en el estudio de CGH-array de 60k, que justificaban su cuadro clínico, un niño con una microdelección subtelomérica del brazo corto del cromosoma 17, pero que no incluía la región crítica aquí estudiada y una niña con una duplicación 1q21.1, locus de susceptibilidad a desórdenes de desarrollo neural que presentaba un fenotipo determinado, con macrocefalia, retraso psicomotor, patología neuropsiquiátrica, rasgos dismórficos y otras anomalías congénitas asociadas. En otro paciente se detectó una espina bífida y una malformación de Chiari II, por lo que también se excluyó del estudio. En otra paciente se confirmó la presencia de infección por citomegalovirus en su historia perinatal que corroboraba el cuadro de la niña. Se diagnosticó también una homocistinuria en otra de las pacientes incluidas inicialmente; una niña fue diagnosticada de síndrome cardio-facio-cutáneo; y por último se excluyeron dos niñas con encefalopatía progresiva, una no filiada y otra en el contexto de una enfermedad neurodegenerativa, Enfermedad de Hallervorden-Spatz (Apéndice 5).

Comentar que en tan solo uno de los casos excluidos, en el paciente con el Síndrome de Edwards, se detectó una alteración en heterocigosis en el microsatélite D17S1566 con delección de 28 pb, Chr17 (del 2840324-2840512) localizado en la región crítica de la lisencefalia, no detectándose ninguna alteración en el resto de pacientes.

A continuación se detallan los resultados obtenidos analizando las siguientes variables:

4.1 ALTERACIONES GENÉTICAS DETECTADAS:

De los 99 pacientes estudiados, 46% presentaron alteraciones genéticas, siendo las alteraciones en la transcripción las más frecuentes (50%), seguidas de las alteraciones en otros genes relacionados con la RCL (43%) y de las mutaciones en la región genómica (30%), sin que las diferencias fuesen estadísticamente significativas (Gráfico 1)

Con respecto a los controles, ninguno de los 400, presentó las alteraciones estudiadas (Tabla 8)



Gráfico 1: Tipo de alteraciones genéticas encontradas

Tabla 8: Tipo de alteraciones genéticas encontradas y la comparativa entre casos y controles.

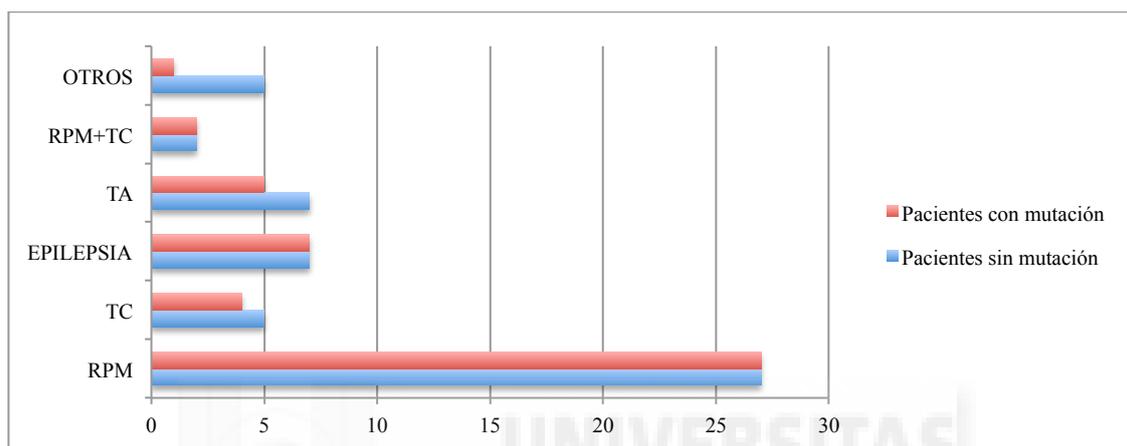
	MUTACIÓN (+)	MUTACIÓN (-)	
CASOS	46	53	99
CONTROLES	0	400	400
	46	453	499

$\chi^2=204.73$; $p: 0,0000000$; Odds Ratio: 346.30 (49,78<OR<6895.74)

El conjunto de los pacientes que presentaron mutaciones o alteraciones en la transcripción, fueron un total de 46 (46,5 %) de los 99 estudiados. Al comparar este porcentaje con el grupo de Control, obtenemos unas diferencias altamente significativas ($\chi^2=204.73$; $p=.0000000$), y si asumimos la presencia de un falso positivo (no detectado en la realidad) nos encontraremos con que el riesgo de tener una mutación en la RCL en pacientes con retraso mental y/o epilepsia que tienen alteraciones en la RMN, es 345 veces superior que en los Controles sanos.

4.2 MOTIVO DE CONSULTA:

El motivo de consulta más frecuente por el que se derivó a nuestra unidad, fue el retraso psicomotor (RPM), que supuso el 61% de las derivaciones, seguido de la epilepsia (15%) y los problemas de aprendizaje (11%), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que posteriormente presentó mutaciones y en el que no (Gráfico 2)



RPM: retraso psicomotor; TA: trastorno de aprendizaje; TC: trastorno de conducta

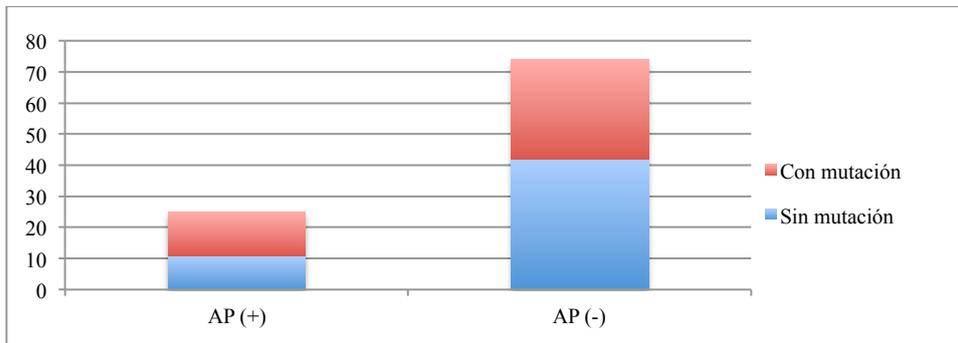
Gráfico 2: Comparativa de los diferentes motivos de consulta en pacientes que presentaron mutación y en los que no

Con respecto a las mutaciones encontradas en función del motivo de consulta, no se encontraron tampoco diferencias significativas. Véase el apéndice 6 detallado.

4.3 ANTECEDENTES PRE Y PERINATALES:

Presentaron antecedentes pre y perinatales menores, 26 de los 99 casos estudiados (26%). Detección en ecografía prenatal malformaciones SNC (n=3); diabetes gestacional (n=2); amenaza de aborto (n=2); amenaza de parto prematuro (n=7); prematuridad (n=4); crecimiento intrauterino retardado (n=1); hidramnios (n=1), síndrome de HELLP (n=1); sospecha de pérdida de bienestar fetal (n=6); cesárea (n=10) y por último ingreso en Unidad Neonatal por hiperbilirrubinemia (n=3), por hipoglucemia (n=1), por riesgo de infección (n=2) y por cuadro malformativo, ano imperforado (n=1).

Comparando estas variables entre los grupos con y sin mutaciones, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. (Gráfico 3) (Tabla 9)



AP(+): Presentar antecedentes pre y perinatales menores. AP(-): No presentar antecedentes pre y perinatales menores

Gráfico 3: Comparación de presentar o no antecedentes pre y perinatales, pacientes con y sin mutación

Tabla 9: Comparación de presentar o no antecedentes pre y perinatales, pacientes con y sin mutación

	Mutación (+)	Mutación (-)	
A.P (+)	14	11	25
A.P (-)	32	42	74
	46	53	99

$\chi^2 = 1,22$; $p = 0,26$; Odds Ratio=1,67 (0,61<OR<4,60)

4.4 SEXO:

De los 99 pacientes estudiados, el 72 % eran niños y el 28% niñas, sin haber diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que tenía mutaciones genéticas y el que no tenía. (Gráfico 4) (Tabla 10)

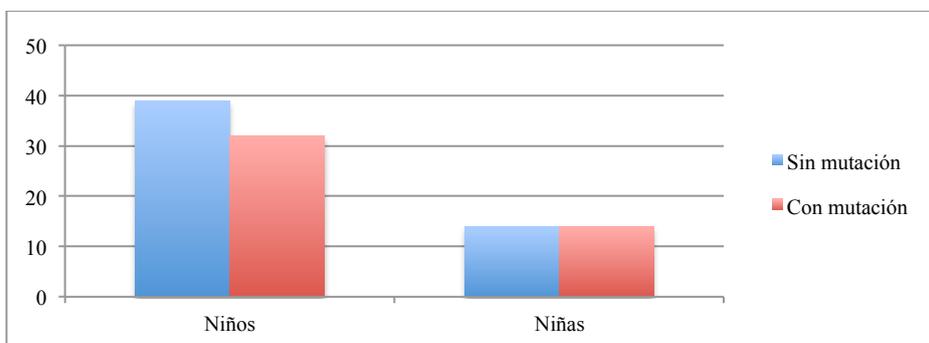


Gráfico 4: Sexo en pacientes con y sin mutación

Tabla 10: Comparativa entre pacientes niños o niñas con y sin mutación

	Mutación (+)	Mutación (-)	
Niños	32	39	71
Niñas	14	14	28
	46	53	99

$\chi^2 = 0,2$; $p = 0,65$; Odds Ratio=0,82 (0,31<OR<2,15)

4.5 MUTACIONES EN LA REGIÓN GENÓMICA

De los 99 estudiados, más del 14%, presentaron algún tipo de mutación en este tipo de análisis, la mayoría varones (10:4), sin ser estadísticamente significativo.

La mutación más frecuente, fue D17S1866 que se detectó en cinco ocasiones (35%), seguida de D17S1566 en cuatro, D17S5 en tres y D17S79-2 que se detectó en dos ocasiones, sin encontrar tampoco diferencias estadísticamente significativas. (Apéndice 7) (Gráfico 5).



Gráfico 5: Tipo de mutaciones en el ADN genómico

El cuadro clínico de los pacientes que presentaron esta mutación estuvo marcado por la presencia de **alteraciones motoras y retraso mental**, y de los siete casos con epilepsia no hubo ninguno que no presentase a la vez alteraciones motoras o retraso, lo mismo que se objetivó en los cuatro casos de trastorno conductual, que a su vez presentaban retraso mental o alteraciones motoras (Apéndice 8).

En cuanto a las alteraciones presentadas en el estudio de Resonancia Magnética Cerebral muestran un predominio las alteraciones subcorticales, en concreto a nivel de sustancia blanca y alteraciones ventriculares, seguidas de alteraciones estructurales a nivel cortical como displasias y atrofia córtico-subcortical. En tres casos se objetivaron anomalías de la línea media, detectándose 1 caso de malformación de fosa posterior y otro de lisencefalia. La única mutación que se asoció a lisencefalia fue la D17S1866 (Figura 18 y 19) (Apéndice 9)

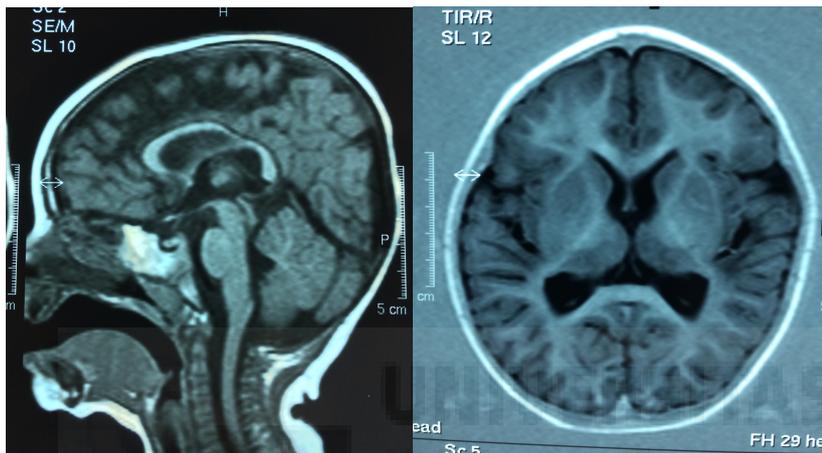


Figura 18: RM cerebral del caso n° 5 que muestra hipoplasia de la zona media del cuerpo calloso. Alteración de señal de la sustancia blanca subcortical frontoparietal bilateral y discretamente temporal biparietal y occipital en relación con leucodistrofia de origen inespecífico

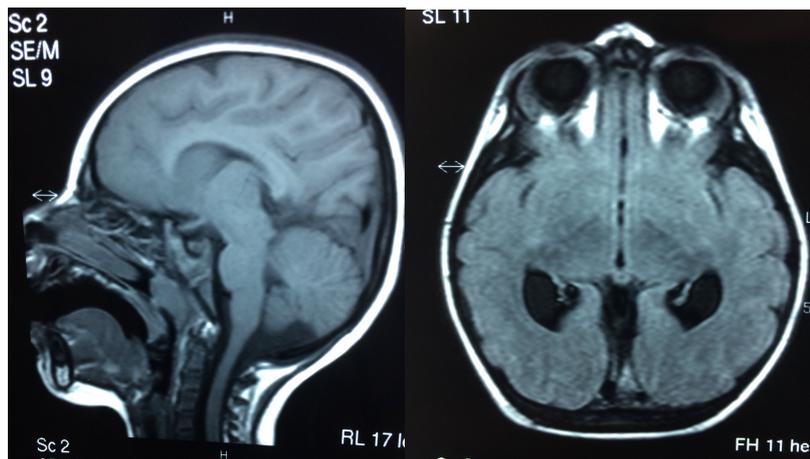


Figura 19: RM cerebral del caso n° 9 donde se aprecia alteración de la surcación cerebral con lisencefalia frontotemporal y discretamente occipital bilateral, con zonas de paquigiria. Dilatación de astas posteriores y temporales de ambos ventrículos laterales.

4.6 ALTERACIONES EN LA TRANSCRIPCIÓN

De los 99 pacientes estudiados, 23 (23%), entre ellos 16 niños y siete niñas, presentaron trastornos en la transcripción.

El marcador más frecuentemente encontrado fue HLIS2 (9 ocasiones), LIS1 (7 ocasiones), HLIS3 (6 ocasiones), HLIS1 en tres ocasiones y HLIS5 y HLIS7 (en una sola ocasión cada uno). Dos mutaciones simultáneas se encontraron hasta en 4 ocasiones, LIS1-HLIS1 en dos, HLISn3-HLIS2 en una y LIS 1- HLIS5 en otra (Apéndice 7) (Gráfico 6).

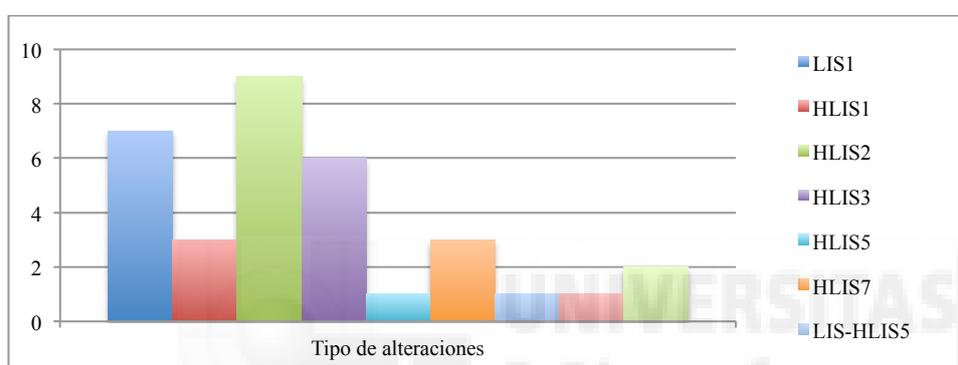


Gráfico 6: Tipo de alteraciones en la transcripción

Entre las manifestaciones clínicas que presentaron alteraciones en la transcripción, destacan el retraso y la epilepsia, encontrándose 15 pacientes con retraso mental y alteraciones en la transcripción, hasta 9 alteraciones en los pacientes que presentaban retraso mental leve y otras 9 en los moderados-severos, y en los 15 pacientes que tenían epilepsia, hasta 16. El retraso motor y los trastornos conductuales fueron los que menos se asociaron a alteraciones en la transcripción (Apéndice 8).

Las alteraciones estructurales observadas en los estudios de RM en relación a la transcripción muestran un predominio las lesiones corticales, tipo displasias y alteraciones a nivel ventricular, seguidas de la alteraciones en sustancia blanca (Figura 20, 21 y 22) (Apéndice 9).

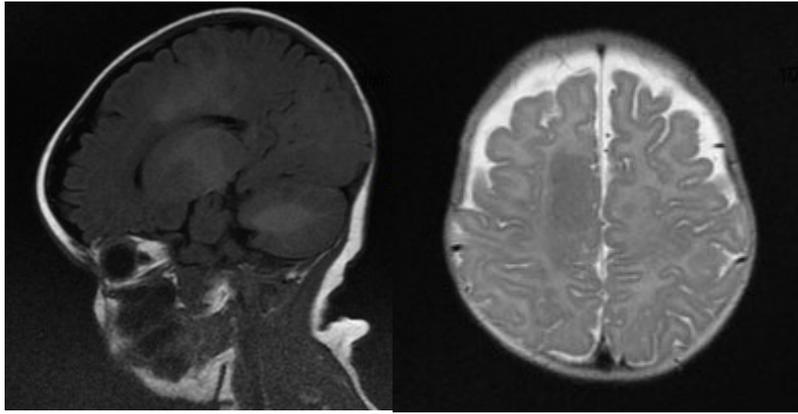


Figura 20: RM cerebral del caso n° 38 donde se aprecia displasia cortical derecha



Figura 21: RM cerebral del caso n°3 donde se observa atrofia parenquimatosa con ligera dilatación ventricular.

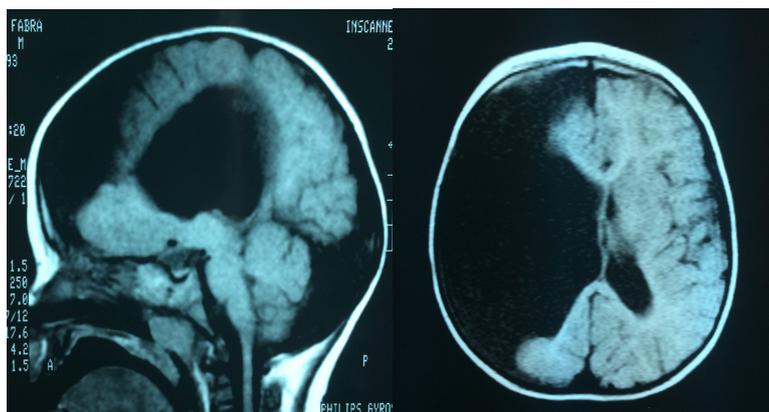


Figura 22: RM cerebral del caso n° 35 donde se aprecia esquisencefalia de tipo labio abierto derecho

4.7 MUTACIONES EN GENES RELACIONADOS

De los 99 pacientes estudiados, el 20% (12 niños y 8 niñas), presentaron mutaciones en otros genes relacionados tanto con *LISI*, la RCL o el neurodesarrollo.

Entre los genes estudiados se evidenciaron mutaciones en *EN2*, *PTAFR*, *CRK* y *PAFAH1B3*. El gen que se encontró alterado con más frecuencia fue *EN2* en el 60% de los casos, seguido de *PTAFR* en un 25%. La alteración de *CRK* la presentaron dos pacientes y en tan solo uno se detectó una mutación en el *PAFAH1B3* (Apéndice 7) (Gráfico 7)

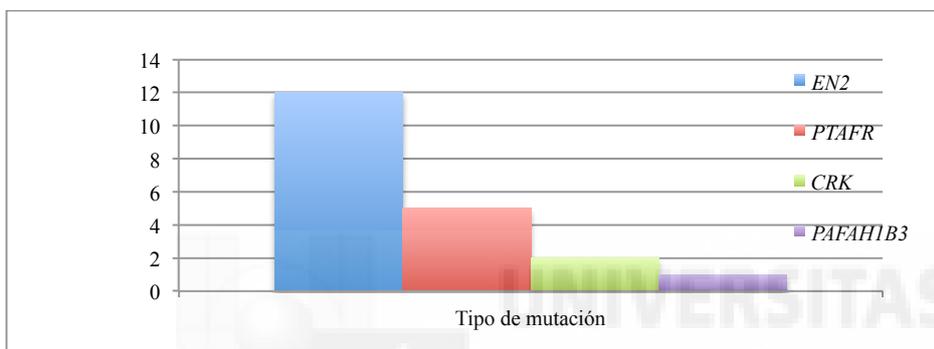


Gráfico 7: Mutaciones de genes relacionados

Con respecto a la clínica más habitualmente asociada destaca el retraso mental. Entre los pacientes con retraso mental el 43% presentó mutación en uno de estos genes (Apéndice 8).

Entre las alteraciones estructurales de la RMN destacan las alteraciones ventriculares en 7 casos, seguidas de anomalías en la línea media en 6, la atrofia córtico-subcortical en 5 y las alteraciones en la Sustancia Blanca en 4 pacientes (Figura 23 y 24) (Apéndice 9).

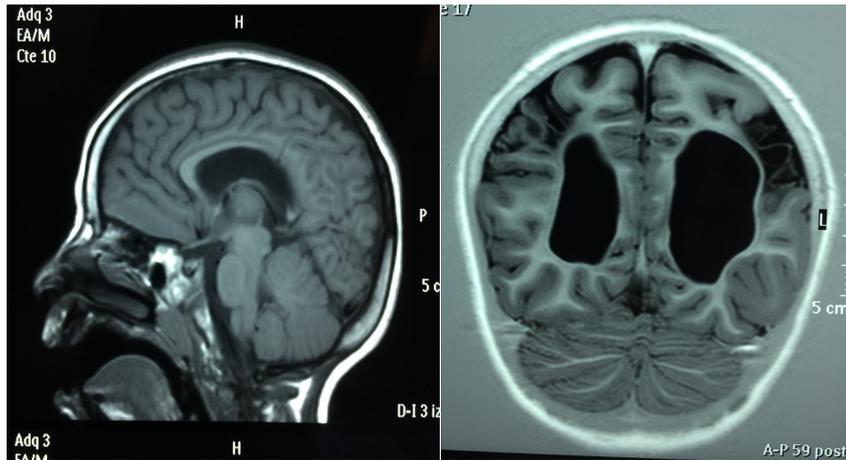


Figura 23: RM cerebral del caso n° 17 donde se aprecia atrofia cortico-subcortical parietal y occipital bilateral con atrofia del cuerpo calloso y dilatación ventricular bilateral.

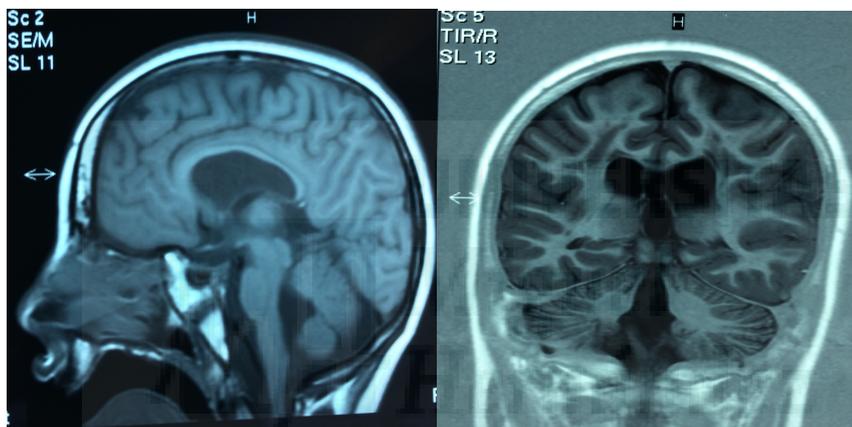


Figura 24: RM cerebral del caso n° 16 donde se aprecia un aumento del tamaño ventricular, con paredes irregulares. Aumento del tamaño de la cisterna magna. Cavum Vergae. Cuerpo calloso adelgazado

En resumen y considerando el conjunto de los pacientes con alteración genética y en relación a la **clínica**, podemos decir que las **mutaciones del DNA** son más significativas en el grupo de pacientes con trastorno motor; que las **alteraciones de la transcripción** las encontramos característicamente en pacientes con epilepsia, siendo también la alteración que predomina tanto en pacientes con retraso mental moderado-grave como con TDAH, pero no de forma estadísticamente significativa, y con respecto a las **mutaciones en otros genes** asociados, el retraso mental es la clínica más prevalente en los pacientes con esta alteración genética, sin ser estadísticamente significativo (Gráfico 8)

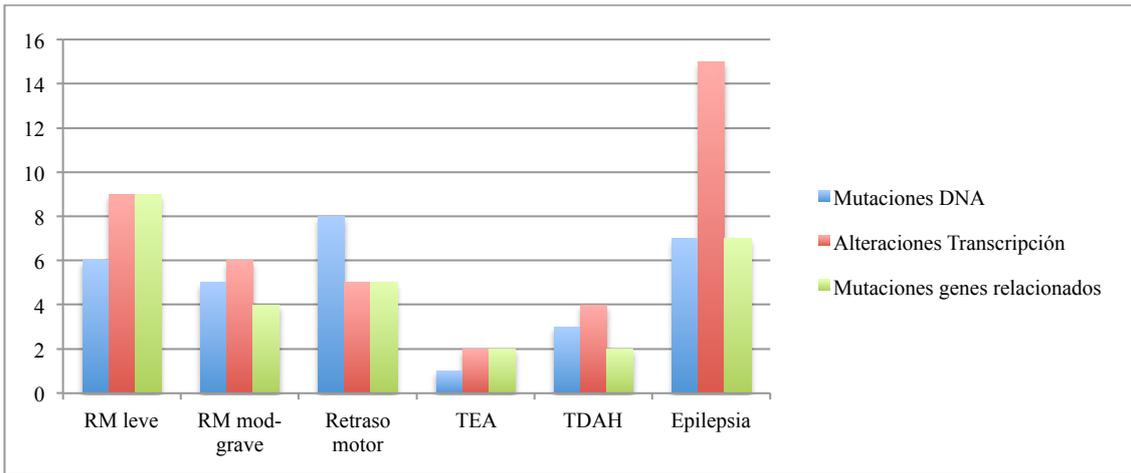


Gráfico 8: Cuadro clínico en función de la alteración genética presente

Y si comparamos la clínica con el hecho de tener o no alteración genética, llama la atención que los pacientes con las alteraciones estudiadas presentan característicamente un patrón clínico de retraso mental, epilepsia y/o alteraciones motoras, en contraste con el grupo que no tiene las alteraciones estudiadas, donde los trastornos de conducta (TC) y en concreto el TDAH y el TEA, son los más prevalentes, aunque sin ser estadísticamente significativo (Gráfico 9) (Tabla 11).

El único dato con significación en función de la clínica es el retraso mental. El riesgo de tener una mutación en la RCL en pacientes con RM es casi 4 veces superior en comparación con los que no tienen esta clínica, siendo también significativo si lo presentan en un grado leve, no así con un grado moderado-grave (Gráfico 9) (Tabla 11).

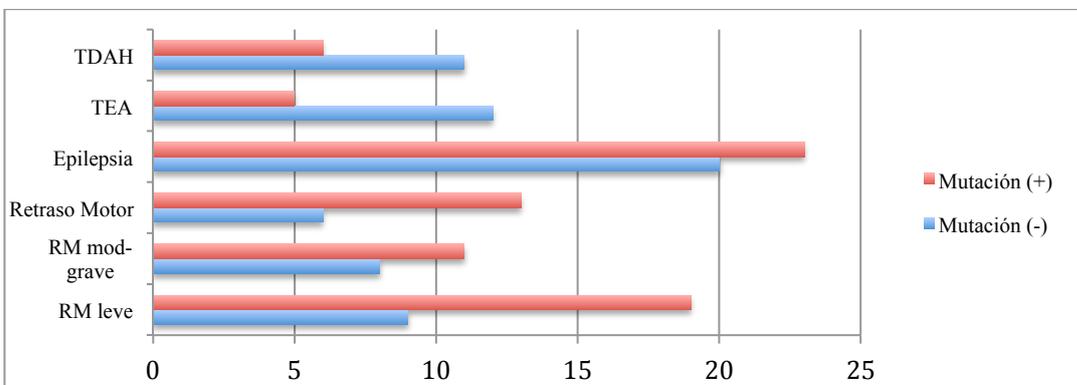


Gráfico 9: Comparación de los hallazgos clínicos en el grupo con y sin mutación

Tabla 11: Análisis estadístico en función de la clínica y la presencia o no de mutación

	M(+)	M(-)	χ^2	p-valor	Odds Ratio
RM	30	17	10,85	0,00098	3,97 (1,59<OR<10,06)
RM leve	19	9	7,18	0,007	3,44 (1,25<OR<9,68)
RM mod-grave	11	8	1,23	0,26	1,77 (0,58<OR<5,47)
Retraso Motor	13	6	4,45	0,032	3,09 (0,96<OR<10,27)
TEA	5	12	2,44	0,11	0,42 (0,12<OR<1,43)
TDAH	6	11	1,03	0,31	0,57 /0,17<OR<1,89)
Epilepsia	23	20	1,51	0,21	1,65 (0,69<OR<3,99)
Otros TC	2	3	0,09	0,76	0,76 (0,08<OR<5,94)

Haciendo un sub análisis con respecto a la epilepsia, no hay significación en cuanto al tipo de epilepsia (parcial o generalizada) en función de si tiene o no mutación (Tabla 12) y tampoco con respecto a la refractariedad en el tratamiento (Tabla 13).

Tabla 12: Tipo de epilepsia en función de si presentan o no mutación

	M (+)	M (-)
Epilepsia parcial	17	12
Epilepsia generalizada	6	7

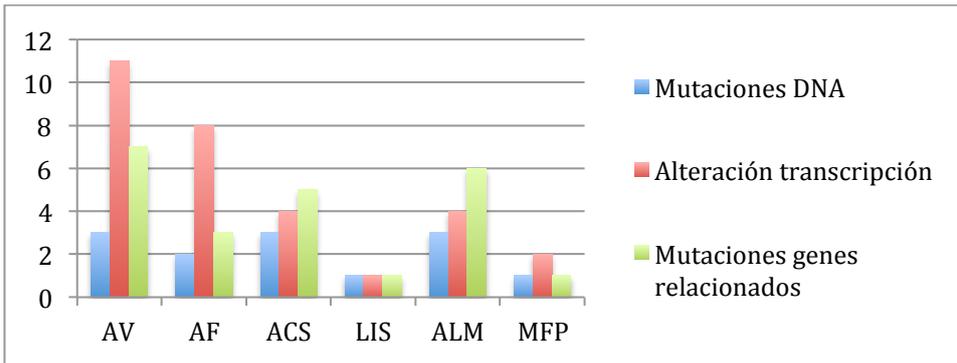
$\chi^2=0,56$; $p= 0,45$; Odds Ratio= 1,65 (0,37<OR<7,56)

Tabla 13: Refractariedad terapéutica en función de la presencia de mutación

	M (+)	M (-)
Epilepsia refractaria	4	2
Epilepsia no refractaria	19	18

$\chi^2=0,49$; $p= 0,48$; Odds Ratio= 1,89 (0,25<OR<17,27)

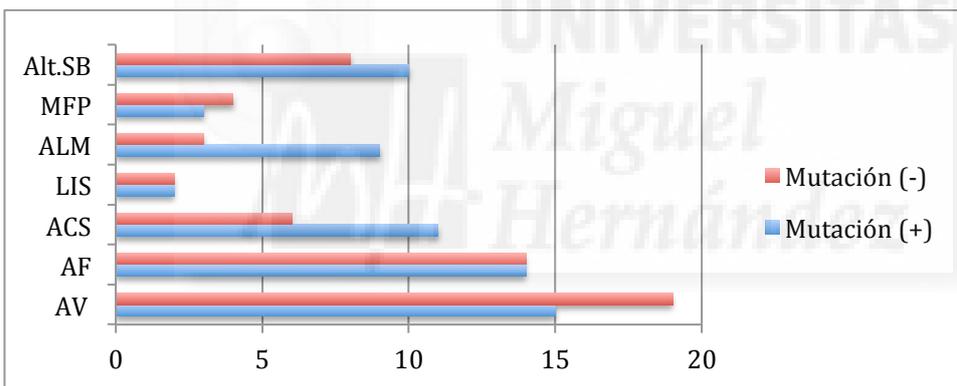
En relación a los **hallazgos encontrados en la Resonancia Magnética Cerebral**, en los pacientes **con alteración genética** las lesiones más habituales, como he hecho referencia anteriormente, son las alteraciones a nivel ventricular, las displasias, las alteraciones en sustancia blanca y las atrofias córtico-subcorticales (Gráfico 10).



AV: alteración ventricular. AF: alteraciones focales. ACS: atrofia córtico-subcortical; LIS: lisencefalia. Anomalías LM: anomalías línea media; MFP: malformaciones fosa posterior; Alt.SB: alteración de la sustancia blanca.

Gráfico 10: Alteraciones estructurales en RMN en función de la mutación que presente

En el grupo de casos **sin alteraciones genéticas**, las alteraciones estructurales más frecuentes también son las alteraciones a nivel ventricular y las alteraciones focales, seguidas de las alteraciones a nivel de la Sustancia Blanca (Gráfico 11).



AV: alteración ventricular. AF: alteraciones focales. ACS: atrofia córtico-subcortical; LIS: lisencefalia. ALM: anomalías línea media; MFP: malformaciones fosa posterior

Gráfico 11: Alteraciones estructurales de la RMN en función de si presentan o no mutación.

El único tipo de hallazgo que se observa en mayor proporción en el grupo sin alteraciones, son las alteraciones ventriculares y las malformaciones de fosa posterior, sin ser estadísticamente significativo.

El resto de hallazgos estructurales es más frecuente encontrarlos en el grupo con alteraciones genéticas, siendo las anomalías de la línea media y la atrofia córtico-subcortical lo más destacable, pero careciendo también de significación estadística (Tabla 14).

Tabla 14: Análisis estadístico en función de la alteración en RMN y la presencia o no de mutación

	M (+)	M (-)	χ^2	p	Odds Ratio
AV	15	19	0,11	0,73	0,86 (0,37<OR<1,99)
AF	14	14	0,19	0,65	1,21 (0,50<OR<2,92)
ACS	11	6	2,74	0,09	2,46 (0,83<OR<7,29)
LIS	2	2	0,02	0,88	1,15 (0,15<OR<8,57)
ASB	10	8	0,73	0,39	1,56 (0,55<OR<4,3)
ALM	9	3	4,46	0,034	4,05 (1,02<OR<16,01)
MFP	3	4	0,04	0,84	0,85 (0,14<OR<4,88)

Este análisis resulta significativo, si la comparación la hacemos en función del marcador alterado y los distintos patrones en la neuroimagen (Tablas 15, 16 y 17). Con lo que podríamos concluir que los pacientes con alteración en la línea media, tienen casi ocho veces más riesgo de tener una mutación en los genes relacionados, que si no tienes dicha alteración radiológica (Tabla 17).

Tabla 15: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de mutaciones en la región genómica

	M. LIS (+)	M. LIS (-)	χ^2	p	Odds Ratio
AV	3	19	1,04	0,30	0,48 (0,12<OR<1,96)
AF	2	14	0,89	0,34	0,46 (0,09<OR<2,33)
ACS	3	6	0,97	0,32	2,13 (0,46<OR<9,90)
LIS	1	2	0,29	0,58	1,96 (0,16<OR<23,34)
ASB	5	8	3,12	0,082	3,12 (0,82<OR<11,77)
ALM	3	3	3,37	0,066	4,54 (0,80<OR<25,59)
MFP	1	4	0,02	0,95	0,94 (0,09<OR<9,16)

Tabla 16: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de alteraciones en la transcripción.

	T (+)	T (-)	χ^2	p	Odds Ratio
AV	11	19	0,96	0,32	1,64 (0,60<OR<4,42)
AF	8	14	0,54	0,46	1,48 (0,51<OR<4,25)
ACS	4	6	0,51	0,47	1,64 (0,41<OR<6,50)
LIS	1	2	0,013	0,90	1,15 (0,09<OR<13,45)
ASB	5	8	0,49	0,47	1,56 (0,45<OR<45,42)
ALM	4	3	2,63	0,10	3,50 (0,71<OR<17,16)
MFP	2	4	0,02	0,86	1,16 (0,19<OR<6,86)

Tabla 17: Análisis estadístico en función de la alteración de la RMN y la presencia o no de mutaciones en otros genes relacionados

	OTROS(+)	OTROS (-)	χ^2	p	Odds Ratio
AV	7	19	0,004	0,94	0,96 (0,32<OR<2,82)
AF	3	14	1,05	0,30	0,49 (0,12<OR<1,93)
ACS	5	6	2,12	0,14	2,61 (0,69<OR<9,78)
LIS	2	2	0,05	0,81	1,34 (0,11<OR<15,67)
ASB	4	8	0,25	0,61	1,40 (0,37<OR<5,31)
ALM	6	3	7,95	0,0048	7,14 (1,58<OR<32,24)
MFP	2	4	0,11	0,73	1,36 (0,22<OR<8,08)

Y si hacemos la comparativa estratificando los hallazgos de la RMN en alteraciones corticales y subcorticales, el riesgo de tener una alteración genética si tienes lesiones a nivel subcortical es mayor que si la alteración no es subcortical, pero no de forma significativa (Tabla 18)

Tabla 18: Análisis estadístico en función de su la alteración es cortical o subcortical.

	M (+)	M (-)
Alteración cortical (+)	27	26
Alteración cortical (-)	19	27

$\chi^2=0,91$ p= 0,33; Odds Ratio= 1,47 (0,66<OR<3,27)

	M (+)	M (-)
Alteración subcortical (+)	34	30
Alteración subcortical (-)	12	23

$\chi^2=3,22$; p= 0,07; Odds Ratio= 2,17 (0,92<OR<5,09)

5. DISCUSIÓN



5 DISCUSIÓN

La distribución de los datos en el grupo de **casos** comparado con el de los **controles** muestra un elevado nivel de significación a favor de la presencia de mutaciones del ADN, anomalías en la transcripción y/o mutaciones en otros genes relacionados con la RCL, entre aquellos pacientes que presentando retraso mental y/o epilepsia, tenían algún tipo de alteración morfológica en la neuroimagen, presentando un riesgo global 345 veces superior al de los controles.

Esta afirmación apunta en la misma dirección, que otras, en las que alteraciones inespecíficas estructurales del desarrollo del SNC diferentes de las lisencefalias tipos I y II (105) en pacientes con retraso psicomotor y/o epilepsia, tienen una base en mutaciones o anomalías genéticas de la Región Crítica de la Lisencefalia, siendo sugerida esta zona como de primer orden en la implicación del desarrollo de las alteraciones estructurales del SNC (106).

Por otra parte, en series más amplias como las de De Wit et al. aunque explican la etiología en el 40% de los pacientes que presentan alteraciones del desarrollo cortical, sólo un 19% lo justifican por mutaciones en las regiones de varios genes implicados en el desarrollo cortical como *LISI*, *DCX*, *FLNA*, *EIF2AK3*, o *KIAA1279* (30). Esta diferencia con nuestra serie, ya que en nuestro caso encontramos mucha más asociación, se podría explicar porque a los estudios de mutaciones de estos genes, hemos añadido los de transcripción, que parecen demostrarse más prevalentes que las propias mutaciones, y son de gran relevancia en el resultado final de la estructuración de la corteza (105). De hecho en nuestra serie el 46% presentó algún tipo de alteración genética, siendo los errores de transcripción los más frecuentes (50%), seguido de las mutaciones en otros genes relacionados (43%) y de las mutaciones en el ADN genómico (30%).

Las áreas de la RCL afectadas, muestran un cierto patrón de preferencia por determinadas mutaciones y marcadores de la transcripción, que, si bien de momento no resultan significativos, apuntan a algunos patrones en los que la región codificante de la RCL parece más afectada (107).

Las técnicas empleadas, podrían tener una limitación al ser de tipo semicuantitativo, lo que llevaría a que algunos casos hayan sido subdiagnosticados. Además, en este estudio nos hemos limitado a reflejar los resultados relativos al LIS1, siendo conscientes de que estas malformaciones tienen descrita su regulación por genes distintos de los aquí analizados (9) (108) (13), cuya inclusión podría producir una mayor potencia diagnóstica de la aquí encontrada.

Con respecto al **motivo por el que se derivó al paciente** a nuestras consultas, el retraso psicomotor, seguido de la epilepsia y del trastorno de aprendizaje, fueron las causas más frecuentes de derivación, y tras cotejarlas con los pacientes que posteriormente presentaron mutación y con los que no la presentaron, no se hallaron diferencias significativas.

La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio, no van a presentar **antecedentes pre y perinatales** relevantes, sin embargo la tendencia que se observa, es que en general los pacientes que presentan mutación en las distintas áreas estudiadas, van a presentar más antecedentes pre y perinatales, en comparación con los que no presentan dicha alteración, sin tener tampoco significación clínica. En un estudio en 76 pacientes con MDC se señaló que en función del tipo de insulto, había más o menos asociación con eventos prenatales. De hecho la displasia cortical focal se asoció con epilepsia más severa y frecuente, así como menor asociación con eventos prenatales o genéticos, y el grupo de polimicrogiria y esquisencefalia, presentaron menos epilepsia, pero mayor asociación genética y eventos prenatales (109).

Al igual que lo descrito clásicamente en otras revisiones en las que se sugiere que la patología neuropediátrica en general es más prevalente en el **sexo** masculino (110),(111), (112) en nuestra serie también hay un predominio de los varones, 72% niños vs 28% niñas, sin encontrar diferencias, cuando los comparamos con el hecho de presentar o no las alteraciones genéticas aquí estudiadas.

En relación con el **cuadro clínico y la neuroimagen**, es interesante realizar una serie de aclaraciones. La valoración amplia realizada de la neuroimagen, en la que se han descrito patrones inespecíficos como asimetrías, lesiones focales, y lesiones leucodistróficas, se ha efectuado con las técnicas disponibles en la práctica clínica habitual del área de salud descrita, donde la resolución de las imágenes se limita a equipos de 1.5 Teslas, por lo que para algunos pacientes podrían resultar condiciones subóptimas para manejar como criterio de exclusión. Por otra parte, nuestros resultados, al estar basados en un reconocimiento primario de las alteraciones estructurales del SNC y no en los fenotipos radiológicos típicos de la lisencefalia (113), van a presentar una explicación etiológica genética menor que la de los pacientes descritos en estas series, que llegan al 75% (114). No obstante, a pesar de esto, nuestros resultados, van a suponer un potencial de diagnóstico etiológico muy importante en el día a día.

Pasando a analizar los hallazgos clínicos y radiológicos en función del tipo de alteración hallada y en comparación con el grupo sin alteraciones genéticas como ya se ha señalado anteriormente en el punto IV de Resultados, cabe destacar lo siguiente:

- Presentan **mutaciones en el ADN genómico** más del 14% de los pacientes, siendo la más frecuente la D17S1866, seguida de la D17S1566, D17S5 y D17S79-2. El cuadro clínico que presentaban estos pacientes se caracterizó por alteraciones motoras y retraso mental, y en los casos en los que tenían epilepsia o trastorno de conducta también presentaban una de estas dos alteraciones. En relación con la Neuroimagen existe un predominio de las alteraciones subcorticales y de la sustancia blanca, seguido de alteraciones corticales focales, atrofia córtico-subcortical, y alteraciones a nivel ventricular. En tres casos se objetivaron anomalías de la línea media y en solo un caso lisencefalia y en otro malformación de fosa posterior.
- Entre las **alteraciones de la transcripción**, que suponen un 23% del total, los marcadores más habituales fueron el HLIS2, LIS1 y HLIS3, y la clínica más frecuente fue la epilepsia y el retraso mental. En relación a la neuroimagen, las alteraciones corticales focales y las alteraciones a nivel ventricular, fueron las más llamativas

- Los **genes relacionados** que más frecuentemente se alteraron fueron el *EN2*, *PTAFR*, *CRK* y *PAFAH1B3*, siendo el *EN2* el más común (60%). La clínica que predominó fue el retraso mental y con respecto a la alteración radiológica, destacó alteración ventricular, seguida de alteraciones de la línea media y atrofia córtico-subcortical.

A pesar de que estos resultados distan de ser significativos, si se puede observar un reagrupamiento de ciertas mutaciones en un área determinada y con una clínica y unos hallazgos radiológicos característicos, que si bien no nos consta que hayan sido comunicados hasta la fecha, si que hablan de una tendencia genotipo-fenotipo concreta que puede tener una relevancia importante a nivel de la práctica clínica, y de forma más significativa en la Neurología Pediátrica. De hecho los resultados obtenidos en el trabajo nos permiten intuir que si aumentáramos el número de casos, algún patrón radiológico y/o clínico específico se podría derivar de este estudio.

También es importante resaltar el hecho de que diversos pacientes acumulan más de una mutación o alteración de la transcripción (anexo 7), o que la misma mutación aparezca en distintos casos con muy diversas alteraciones radiológicas (anexo 9).

Con respecto a la variabilidad fenotípica en función de una o más variantes detectadas, en nuestra serie, que el paciente presente más marcadores alterados no se traduce necesariamente en un fenotipo clínico más abigarrado, aunque debido al pequeño tamaño muestral, esto no es concluyente. Lo que si se ha objetivado es una tendencia a presentar un fenotipo de epilepsia y/o retraso y/o trastorno motor en los pacientes con alteración genética vs los que no tenían alteraciones genéticas, en los que los trastornos de conducta, ha sido la clínica predominante, aunque no de forma significativa.

En lo que se refiere a la traducción radiológica de una misma mutación, se podría explicar tal diferencia por la influencia poligénica ya conocida en el desarrollo de las anomalías estructurales del SNC (5), (113). Si bien seguimos pensando que el gen *LISI* y la *RCL* juegan un papel muy importante en la interpretación de la patología del desarrollo de la corteza cerebral.

Por lo tanto, con los resultados que hemos obtenido hasta el momento en este estudio, podemos decir que las alteraciones en la RCL pueden explicar la etiología de casi un 50% de los pacientes que tengan clínica de retraso psicomotor y/o epilepsia y que compartan anomalías estructurales del SNC.

Es evidente que se debe profundizar en la definición de los grupos clínicos, pero los resultados estadísticos sugieren que la RCL debe ser uno de los puntos del genoma que más repercusión puede tener en la patología del neurodesarrollo que se aborda en la clínica neuropediátrica.



6. CONCLUSIONES



6 CONCLUSIONES

1. Las mutaciones del gen *LISI*, así como de la región cromosómica en la que se encuentra, la Región Crítica de la Lisencefalia (RCL), producen diferentes grados de alteración del desarrollo de la corteza cerebral, que se pueden manifestar como diferentes tipos de anomalías congénitas.
2. Dentro de los distintos tipos de alteraciones de la RCL, a parte de las mutaciones génicas, los errores en la transcripción parece que tienen un papel relevante en el origen de las alteraciones del desarrollo de la corteza cerebral.
3. En nuestro estudio se puede observar un reagrupamiento de ciertas mutaciones en un área determinada y con una clínica y unos hallazgos radiológicos característicos, que aunque no están descritos hasta la fecha, pueden suponer un avance importante en el conocimiento y manejo de determinadas patologías.
4. Las alteraciones en la RCL pueden explicar la etiología de casi un 50% de los pacientes con retraso psicomotor y/o epilepsia con anomalías estructurales en el SNC, como se desprende de este trabajo en el que pacientes con esta patología y alteraciones inespecíficas estructurales del SNC, tenían casi 350 veces más de riesgo de presentar alteraciones en dicha región, que un grupo control.
5. Concluimos por tanto que la RCL es una de las zonas del genoma que más repercusión tiene sobre el neurodesarrollo, por lo que su estudio puede llegar a ser muy relevante para dar explicación causal de diferentes problemas neurológicos, así como servir de importante herramienta ya no solo diagnóstica, sino también pronóstica e incluso terapéutica.

7. BIBLIOGRAFÍA



7 BIBLIOGRAFÍA:

1. Garcia-Lopez, Raquel; Pombero, Ana; Dominguez, Eduardo; Geijo-Barrientos, Emilio; Martinez S. Developmental alterations of the septohippocampal cholinergic projection in a lissencephalic mouse model. *Exp Neurol*. 2015;271:215–27.
2. Bi W, Sapir T, Shchelochkov OA, Zhang F, Withers MA, Hunter J V, et al. Increased LIS1 expression affects human and mouse brain development. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Feb;41(2):168–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.302>
3. Valdés-Sánchez, Lourdes; Escámez Teresa; Echevarria, Diego; Ballesta, Juan J; Tabarés-Seisdedos, Rafael; Reiner, Orly; Martinez SG-BE. Postnatal alterations of the inhibitory synaptic responses recorded from cortical pyramidal neurons in the Lis1/sLis1 mutant mouse. *Mol Cell Neurosci*. 2007;35:220–9.
4. Tabares-Seisdedos, R; Escámez, T; Martínez-Giménez, JA; Balanzá V. Variations in genes regulatind neuronal migration predict reduced prefrontal cognition in schizophrenia and bipolar subjects from mediterranean Spain. A preliminary study. *Neuroscience*. 2006;139:1289–300.
5. Reiner O, Sapoznik S, Sapir T. Lissencephaly 1 linking to multiple diseases: mental retardation, neurodegeneration, schizophrenia, male sterility, and more. *Neuromolecular Med* [Internet]. 2006;8:547–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1385/NMM:8:4:547>
6. Friede RL. *Developmental Neuropathology*,. 2^a ed Springer-Verlag. 1989;
7. Sarnat HB. *Cerebral Dysgenesis. Embrilogy and Clinical Expression*. Oxford Univ Press. :215–36.
8. Norman M.G., Mc Gillivray B.C., Kalousk D.K., Hil -A. and PK-. *Congenital Malformations of the brain*. Oxford Univ Press. 1995;

9. Troncoso, Mónica; Millán F. Espectro Genético/Clínico de las Malformaciones del Desarrollo Cortical. *Rev Chil Epilepsia*. 2012;N1.
10. Puelles L, Martínez S, Martínez M. Neuroanatomía. Procesos histogenéticos en el SNC. 2008. 74-75 p.
11. Spassky N, Merkle FT, Flames N, Tramontin AD, García-Verdugo JM A-BA. Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. *J Neurosci*. 2005;25:10–8.
12. Nestler EJ, Dennis S. *Neurobiology of Mental Illness* by Eric J. Nestler, Dennis S. Charney. 2005. 125-126 p.
13. Cruz MGF, Escobar A. Normal neuronal migration. *Salud Ment*. 2011;34(1):61-6
14. Montejo Gañán, I; Ospina Moreno, C; Vela Marin A. Alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral. Presentación clínica y hallazgos en TC y RM. Congr SERAM. 2014;
15. Puelles L, Martínez S, Martínez M. Neuroanatomía. Corteza cerebral. Isocórtex y allocórtex. Tipos y áreas isocorticales. 2009. 204-205 p.
16. Hirotsune S. Graded reduction of Pafah1b1 (Lis1) activity results in neuronal migration defects and early embryonic lethality. *Nat Genet* [Internet]. 1998;19:333–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/1221>
17. Paridaen JT, Huttner WB. Neurogenesis during development of the vertebrate central nervous system. *EMBO Rep*. 2014;15(4):351–64.
18. Guerrini R, Parrini E. Neuronal migration disorders. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2010;38(2):154–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2009.02.008>

19. Guerrini R, Dobyns WB. Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. *Lancet Neurol* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2016 Oct 7];13(7):710–26. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442214700407/fulltext>
20. Shu T. Ndel1 operates in a common pathway with LIS1 and cytoplasmic dynein to regulate cortical neuronal positioning. *Neuron* [Internet]. 2004;44:263–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.030>
21. Tsai JW, Bremner KH, Vallee RB. Dual subcellular roles for LIS1 and dynein in radial neuronal migration in live brain tissue. *Nat Neurosci* [Internet]. 2007;10:970–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nn1934>
22. Trokter M, Surrey T. LIS1 clamps dynein to the microtubule. *Cell* [Internet]. 2012;150(5):877–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.010>
23. Chen K. Interaction between Dab1 and CrkII is promoted by Reelin signaling. *J Cell Sci* [Internet]. 2004;117:4527–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.01320>
24. Assadi AH. Interaction of reelin signaling and Lis1 in brain development. *Nat Genet* [Internet]. 2003;35:270–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ng1257>
25. Ballif BA. Activation of a Dab1/CrkL/C3G/Rap1 pathway in Reelin-stimulated neurons. *Curr Biol* [Internet]. 2004;14:606–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2004.03.038>
26. Barredo Valderrama, E; Miranda Herrero, MC; Castro de Castro P. Malformaciones primarias cerebrales. En A. Verdú. *Manual de Neurología infantil*. 2ªed. Editorial panamericana. 2014. 219-237 p.
27. Marín O. *Migración neuronal y enfermedades del desarrollo del sistema nervioso*. 2009

28. Lubieniecki, Fabiana; Sandrone, Silvana; Bartuluchi M. Patología de las malformaciones del desarrollo cortical en pacientes con epilepsia refractaria. Experiencia en un hospital pediátrico. *Rev Argent Neuroc.* 2010;24:s83–93.
29. Mischel, PS; Vinters H. Neuropathology of developmental disorders associated with epilepsy. Lippincott-Raven Publ. 1997;119–32.
30. De Wit MC, Lequin MH, de Coo IF, Brusse E, Halley DJ van de GA et al. Cortical Brain Malformations: Effect of clinical, neuroradiological and modern genetic classification. *Arch Neurol.* 2008;65(3): 58-66.
31. Barkovich AJ, Kuzniecky R, Dobyns W, Jackson G BL. A classification Scheme for Malformations of Cortical Development. *Neuropediatrics.* 1996;27:59–63.
32. Barkovich AJ. Classification system for malformations of cortical development: *Neurology.* 2001;57:2168-78.
33. Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Jackson GD, Guerrini R, Dobyns WB. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development. *Neurology* [Internet]. 2005;65:1873–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000183747.05269.2d>
34. Barkovich AJ, Guerrini R, Kuzniecky RI, Jackson GD, Dobyns WB. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: Update 2012. *Brain.* 2012;135(5):1348–69.
35. Aicardi J. Epilepsy in Brain-injured children. *Dev Med Child N.* 1990;32:191–202.
36. Aicardi J. The agyria-pachygyria complex: a spectrum of cortical malformations. *Brain Dev.* 1991;13:1–8.
37. Al C et. A particular type of epilepsy in children with congenital hemiparesis associated with unilateral polymicrogyria. *Epilepsia.* 1999;40(7):865–79.

38. Leventer, RJ; Phelan, EM; Coleman L et al. Clinical and imaging features of cortical malformations in childhood. *Neurology*. 1999;53:715–22.
39. Tuchman, RF; Moshé, SL; Rapin I. Trastornos del neurodesarrollo y epilepsia. *Rev Neurol*. 2005;40:s3–10.
40. Goulden, KJ; Shinnar, S; Koller H et al. Epilepsy in children with mental retardation. *Epilepsia*. 1991;32:690–7.
41. Paredes, MF; Baraban S. A review of gene expression patterns in the malformed brain. *Mol Neurobiol*. 2002;26:109–16.
42. Crino, PB; Miyata HVH. Neurodevelopmental disorders as a cause of seizures: neuropathologic, genetic, and mechanistic considerations. *Brain Pathol*. 2002;12:212–33.
43. Guerrini RC. Epilepsy and genetic malformations of the cerebral cortex. *Am J Med Genet*. 2001;106:160–73.
44. Casas Fernández, Carlos; Campistol J. Convulsiones y epilepsias del niño y adolescente. En *Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico*. 1ª ed. Editorial panamericana. 2011. 213-240 p.
45. Casas Fernández C. Características y tratamiento de las epilepsias en la infancia. En: *Evidencia científica en epilepsia*. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo. Organización médica colegial. 2006. 81-92 p.
46. Panayiotopoulos C. Idiopathic generalized epilepsies: a review and modern approach. *Epilepsia*. 2005;46:s1–6.
47. Pascual-Castroviejo, I; Hernández-Moneo JL; , Gutiérrez-Molina ML P-PS. Displasia cortical focal. Correlaciones clínico-radiológicas-patológicas. *Neurología*. 2012;7(8):472—480.

48. Póo P. Trastorno del desarrollo psicomotor. En: Cruz-Hernández M. Tratado de Pediatría. 9ª ed. Madrid. 2006. 1741-1774 p.
49. Poch-Olivé M. Evaluación y diagnóstico del paciente con retraso del desarrollo: protocolos estandarizados desde el punto de vista del neuropediatra. Rev Neurol. 2006;42:s99-102.
50. Poo, P; Campistol J. Desarrollo psicomotor. En Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico. Ed 1. Editorial Panamericana. 2011. 77-91 p.
51. Castaño de la Mota, C; Ruiz-Falcó Rojas, ML; García Peñas, JJ; Calleja Gero, ML; Duat Rodríguez A. Polimicrogria: epidemiología, factores neurológicos y anatómicos y evolución clínica de una serie de 34 casos. An Pediatr. 2011;75:358-64.
52. Robaina-Castellanos, GR; Riesgo-Rodríguez S. Definición y clasificación de la parálisis cerebral ¿un problema ya resuelto? Rev Neurol. 2007;45:110-7.
53. Nelson, KB; Ellenberg J. Antecedents of cerebral palsy. Multivariate analysis of risk factors. N Engl J Med. 315:81-6.
54. Stanley, FJ; Watson L. Methodology of a cerebral palsy register: the Western Australian experience. Neuroepidemiology. 1985;4:146-60.
55. Platt, MJ; Cans, C; Johson A y cols. Trends in cerebral palsy among infants of very low birthweight (<1500g) or born prematurely (<32 weeks) in 16 european centres: a database study. Lancet. 2007;369:43-50.
56. Hagberg B, Hagberg G ZR. Decreasing perinatal mortality: increase in cerebral palsy morbidity. Acta Paediatr Scand. 1989;78:664-70.
57. Elam H. A panoramic view of the children's neurology service in Ibadan, Nigeria. Dev Med Child Neurol. 1967;9:784.

58. Scher A, Petterson B, Al BE et. The risk of mortality or cerebral palsy in twins: a collaborative population-based study. *Paediatr Res.* 2002;52:671:81.
59. Zelnik, N; Konopnicki, M; Bennett-Back O. Risk factors for epilepsy in children with cerebral palsy. *Eur J Paediatr Neurol.* 2010;14:67–72.
60. Rosenbaum, P; Paneth, N; Leviton A. A report: the definition and calssification of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2007;49:8–14.
61. Poo, P; Campistol J. Parálisis cerebral infantil. En *Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico.* 1ª ed. Editorial Panamericana. 2011. 93-109 p.
62. Fejerman, N; Fernández Álvarez E. Retardo mental. Deterioro de las funciones cerebrales. En *Neurología Pediátrica.* 2ª ed. Madrid. Ed Médica Panamericana. 1997.
63. DSM IV-TR. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Texto revisado por López Ibor JJ, Vald M 1ªed Madrid Masson. 2002
64. García Pérez, A; Narbona García, J; Martínez-Granero M. Retraso mental. En Verdú Pérez A, García Pérez A, Martínez Menéndez B *Man Neurol Infant* 1ª ed Madrid Publimed. 2008;341–9.
65. Iris-Puñal J. Aportación de la genética y de los estudios neurometabólicos al diagnóstico de retraso mental. *Rev Neurol.* 2006;3:177–80.
66. Ruggieri, Victor; Campistol J. Autismo. Trastornos generalizados del desarrollo. En *Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico.* Ed 1. Editorial Panamericana. 2011. 126-137 p.
67. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. DSM IV. 4ª ed (text rev.) Washigton, DC. Am Psychiatr Ass. 2000

68. Artigas-Pallares J. Trastornos del espectro autista. En Trastor del Neurodesarrollo 1ª ed Editor Viguera. 2011
69. Ruggieri, VL; Arberas C. Fenotipos conductuales. Patrones neuropsicológicos biológicamente determinados. Rev Neurol. 2003;37:239–53.
70. Chakrabarti, S; Fombonne E. Pervasive developmental disorders in pre school children: confirmation of high prevalence. Am J Psychiatry. 2005;162:1133–41.
71. Hernández, J; Artigas-Pallares, J; Martos-Pérez J y cols. Guía de buena práctica para la detección temprana de los trastornos del espectro autista. Rev Neurol. 2005;41:237–45.
72. García-Peñas J. Autismo, epilepsia y patología del lóbulo temporal. Rev Neurol. 2009;48(Supl2):S35–45.
73. Casanova M. Neuropathological and genetic findings in autism: the significance of a putative minicolumnopathy. Neuroscientist. 2006;12:435–41.
74. Ruggieri, Victor; Campistol J. Trastornos por déficit de atención con o sin hiperactividad. En Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico. 2011. 140-151 p.
75. Gillberg C. Deficits in attention, motor control, and perception: a brief review. Arch Dis Child. 2003;88:904–10.
76. (APA) APA. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Criterios diagnósticos DSM-IV-TR. Washington DC. 2002
77. Ramos-Quiroga J, Picado M, Mallorquí-Bagué N. Neuroanatomía del trastorno por déficit de atención/ hiperactividad en el adulto: hallazgos de neuroimagen estructural y funcional. Rev Neurol. 2013;56 (Supl 1:S93–106)

78. Ruggieri V. Trastorno por déficit de atención y comorbilidades en la infancia. *Med Infant*. 2005;13:199–206.
79. Narbona, J; Crespo-Eguílaz N. Trastorno de aprendizaje procedimental. En *Trastornos del neurodesarrollo*. Ed1ª. Editorial Viguera. 2011. 429-449 p.
80. Sans Fitó, A; Campistol J. Trastornos del aprendizaje. En *Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico*. Ed 1ª. Editorial Panamericana. 2011. 153-165 p.
81. Garaizar Axpe C, Pérez García J, Gil Antón J, JM PV. Frecuencia y diversidad clínica actual de las disgenesias corticales cerebrales. *An españoles pediatría*. 1998;48.
82. Narbona, J; Chevrie-Muller C. *El lenguaje del niño: desarrollo, evaluación y trastornos*. 2ª ed. Barcelona: Masson-Elvesier.
83. Crespo-Eguílaz, N; Narbona J. Subtipos de trastorno específico del desarrollo del lenguaje (TEL): perfiles clínicos en una muestra hispanohablante. *Rev Neurol*. 2006;43:s193–200.
84. Artigas-Pallares J. Trastornos del habla y del lenguaje. En Artigas Pallarés J, Narbona J, eds. *Trastornos del neurodesarrollo*. Barcelona. Viguera. 2011;
85. Rapin, I; Dunn, MA; Allen D. Subtypes of language disorders in school-age children with autism. *Dev Neuropsychol*. 2009;34:66–84.
86. Durán, MH; Medeiros, LL; Guerreiro M. Landau-Kleffner syndrome: long term follow-up. *Brain*. 2009;31:58–63.
87. Blum A, Tremont G, Donahue J, Tung G, Duncan J, Buchbinder B, et al. Landau Kleffner syndrome with lateral temporal focal cortical dysplasia and mesial temporal sclerosis: 30-year follow-up. *Epilepsy Behav*. 2007;10(3):495–503.

88. Zan, Fernando; Ruggieri V. Trastorno del comportamiento en niños y adolescentes. En *Neurología para pediatras. Enfoque y manejo práctico*. Ed Panamericana. 2011. 168-174 p.
89. GUÍO LV. Caracterización clínica de los pacientes con malformaciones del desarrollo cortical, atendidos en la consulta de Neuropediatría de la Liga Central contra la Epilepsia de Bogotá y el Hospital de la Misericordia. 2011.
90. Reiner O, Sapir T. LIS1 functions in normal development and disease. *Curr Opin Neurobiol* [Internet]. 2013;23(6):951–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2013.08.001>
91. Dobyns WB, Reiner O, Carrozzo R, Ledbetter DH. Lissencephaly. A human brain malformation associated with deletion of the LIS1 gene located at chromosome 17p13. *J Am Med Assoc* [Internet]. 1993;270:2838–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.270.23.2838>
92. Reiner,O., Albrecht,U., Gordon,M., Chianese,K.A., Wong,C., Sapir,T., Siracusa,L.D., Buchberg,A. M., Caskey,C.T. and Eichele G. Lissencephaly gene (LIS1) expression in the CNS suggests a role in neuronal migration. *J Neurosci*. 1995;15:3730–8.
93. Reiner O, Cahana a, Escamez T, Martinez S. LIS1-no more no less. *Mol Psychiatry*. 2002;7(1):12–6.
94. Kholmanskikh SS, Koeller HB, Wynshaw-Boris A, Gomez T, Letourneau PC RM. Calcium-dependent interaction of Lis1 with IQGAP1 and Cdc42 promotes neuronal motility. *Nat Neurosci*. 2006;9(1):50–7.
95. Yingling J. Neuroepithelial stem cell proliferation requires LIS1 for precise spindle orientation and symmetric division. *Cell* [Internet]. 2008;132:474–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.026>

96. Spassky N, Goujet-Zalc C, Parmantier E, Olivier C, Martinez S, Ivanova A, Ikenaka K, Macklin W, Cerruti I, Zalc B TJ. Multiple restricted origin of oligodendrocytes. *JNeurosci*. 18:8331–43.
97. Olivier C, Cobos I, Perez Villegas EM, Spassky N, Zalc B, Martinez S TJ. Monofocal origin of telencephalic oligo- dendrocytes in the anterior entopeduncular area of the chick embryo. *Development*. 2001;128:1757–69.
98. Cobos I, Puellas L MS (2001) T. The avian telencephalic subpallium originates inhibitory neurons that invade tangentially the pallium (dorsal ventricular ridge and cortical areas). *Dev Biol*. 2001;239:30–45.
99. Flames N, Pla R, Gelman DM, Rubenstein JL, Puellas L MO. Delineation of multiple subpallial progenitor domains by the combinatorial expression of transcriptional codes. *J Neurosci*. 2007;27:9682–95.
100. Fogarty, M.P; Grasdeder LI OT. Fibroblast growth factor blocks sonic hedgehog signaling in neuronal precursors and tumor cells. *Natl Acad Sci United States Am*. 2007;104:2973–8.
101. Marin O RJ. Cell migration in the forebrain. *Annu Rev Neurosci* 26. 2006;26:441–83.
102. Liu, Judy; Walsh, S; Christopher A. Rare genetic causes of lissencephaly may implicate microtubule-based transport in the pathogenesis of cortical dysplasias. *Epilepsia*. 2010;51(SUPPL. 5):67.
103. Matsumoto N, Leventer RJ KJ et al. Mutation analysis of the DCX gene and genotype/phenotype correlation in subcortical band heterotopia. *Eur J Hum Genet*. 2001;9(1):5-12.
104. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investig en Discapac*. 2013;2:70–8.

105. Verloes A, Elmaleh M, Gonzales M, Laquerriere A GP. Genetic and clinical aspects of lissencephaly. *Rev Neurol*. 2007;163:533–47.
106. Mei D, Lewis R PE et al. High frequency of genomic deletions--and a duplication--in the LIS1 gene in lissencephaly: implications for molecular diagnosis. *J Med Genet*. 2008;45:355–61.
107. Cardoso C. Refinement of a 400-kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller-Dieker syndrome, and other phenotypes secondary to deletions of 17p13.3. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2003;72:918–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1086/374320>
108. Liu J. Molecular Genetics of Neuronal Migration Disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2011;11:171-178.
109. Montenegro, MA; Guerreiro, M; Lopes-Cendes, Iscia; Guerreiro, C; Cendes F. Intrrelationship of genetics and prenatal injury in the genesis of malformations of cortical development. *Arch Neurol*. 2002;59:1:147–53.
110. Navarro-Pardo, Esperanza; Meléndez Moral, Juan Carlos; Sales Galán A. Desarrollo infantil y adolescente: trastornos mentales más frecuentes en función de la edad y el género. *Psicothema*. 2012;24:377–83.
111. Pascual-Castroviejo I, Pascual-Pascual S, Martínez V. Malformaciones del desarrollo cortical y su repercusión clínica en una serie de 144 casos. *Rev Neurol*. 2003;37:327–44.
112. Leventer R, Jansen A, Pilz D, Stoodley N. Clinical and imaging heterogeneity of polymicrogiria: a study of 328 patients. *Brain*. 2010;133:1415–27.
113. Fry AE, Cushion TD, Pilz DT. The genetics of lissencephaly. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2014;166(2):198–210.

114. Haverfield EV, Whited AJ, Petras KS, Dobyns WB DS. Intragenic deletions and duplications of the LIS1 and DCX genes: a major disease-causing mechanism in lissencephaly and subcortical band heterotopia. *Eur J Hum Genet.* 2009;17(7):911–8.



8. ANEXOS



8 ANEXOS

8.1 Anexo 1. Clasificación completa de las malformaciones del desarrollo cortical

- (I) MALFORMATIONS SECONDARY TO ABNORMAL NEURONAL AND GLIAL PROLIFERATION OR APOPTOSIS
- (A) SEVERE CONGENITAL MICROCEPHALY (MIC), pre-migrational reduced proliferation or excess apoptosis
- (1) MIC with severe IUGR deficiency and short stature
Clinically defined with AR inheritance
 - (a) Seckel syndrome with unknown cause (Shanske *et al.*, 1997)
 - (b) MOPD syndromes with unknown cause
 - (c) Other MIC-IUGR syndromes
 - (d) Seckel syndrome with mutations in *ATR* at 3q22-q24 (O'Driscoll *et al.*, 2003)
 - (e) MOPD type 2 with mutations in *PCNT* at 21q22.3 (Rauch *et al.*, 2008)
 - (f) MOPD type 1 with mutations in *ORC1* at 1p32 (Bicknell *et al.*, 2011)
 - (g) MOPD type 1 with mutations in *ORC4* at 2q22-q23 (Guernsey *et al.*, 2011)
 - (h) MOPD type 1 with mutations in *ORC6* at 16q12 (Bernal and Venkitaraman, 2011)
 - (i) MOPD type 1 with mutations in *CDT1* at 16q24.3 (Bicknell *et al.*, 2011b)
 - (j) MOPD type 1 with mutations in *CDC6* at 17q21.2 (Bicknell *et al.*, 2011a)
 - (2) MIC with variable short stature (severe IUGR to mildly short), moderate to severe DD/ID, normal to thin cortex, SIMP, with/without callosal hypogenesis
Genetically defined with AR inheritance
 - (a) Seckel syndrome or AR primary microcephaly (MCPH) with mutations in *CENPJ* at 13q12.12 (Al-Dosari *et al.*, 2010)
 - (b) Seckel syndrome or MCPH with mutations in *CEP152* at 15q21.1 (Kalay *et al.*, 2011)
 - (3) MIC with mildly short stature or normal growth, mild-moderate DD/ID, normal to thin cortex, with/without SIMP, with/without callosal hypogenesis and with/without focal PNH
Clinically defined with AR inheritance
 - (a) AR primary microcephaly (MCPH) (Woods *et al.*, 2005)
Genetically defined with AR inheritance
 - (b) MCPH with mutations in *ASPM* at 1q31.3 (Bond *et al.*, 2003; Shen *et al.*, 2005; Desir *et al.*, 2008)
 - (c) MCPH with mutations in *MCPH1* at 8p23.1 (Trimborn *et al.*, 2004; Darvish *et al.*, 2010)
 - (d) MCPH with mutations in *CDKRAP5* (Bond *et al.*, 2005; W.B.D., in preparation)
 - (e) MCPH with mutations in *STIL* at 1p33 (Kumar *et al.*, 2009)
 - (4) MIC with mildly short stature or normal growth, severe DD/ID, variable cortical development with SIMP or cortical dysgenesis and with/without ACC (includes genes with spectrum from SIMP to dysgenetic cortex or PMG)
Clinically defined with AR or XL inheritance
 - (a) MIC with diffuse PMG
 - (b) MIC with asymmetric PMG
 - (c) MIC with atypical cortical dysgenesis
Genetically defined with AR inheritance
 - (d) MCPH with mutations in *PNKP* at 19q13.33 (Shen *et al.*, 2010)
 - (e) MCPH, MIC with diffuse PMG (MDP) or MIC with asymmetric PMG (MAP) with mutations in *WDR62* at 19q13.12 (Bilgüvar *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2010)
 - (f) MCPH, MDP (other cortical malformation) with mutations in *NDE1* at 16p13.11 (Alkuraya *et al.*, 2011; Bakircioglu *et al.*, 2011)
 - (g) MDP-MAP and ACC with mutations of *TBR2 (EOMES)* at 3p24.1 (Baala *et al.*, 2007)
 - (5) MIC with variable anomalies and less well characterized syndromes; with/without SIMP; with/without PNH, with/without CBLH
Clinically defined with probable AR inheritance
 - (a) MIC with diffuse periventricular nodular heterotopia
 - (b) MIC with disproportionate cerebellar hypoplasia
 - (c) MIC (extreme) with jejunal atresia (Stromme *et al.*, 1993)
Genetically defined with AR inheritance
 - (d) MIC-PNH associated with mutations in *ARFGF2* at 20q13.13 (Sheen *et al.*, 2004; de Wit *et al.*, 2009)
 - (6) MIC with severe DD/ID and evidence of degeneration, with/without mildly short stature, with/without enlarged extra-axial spaces, with/without ACC, with/without atypical cortical dysgenesis
Clinically defined with AR inheritance
 - (a) MIC with enlarged extra-axial space
 - (b) MIC with enlarged extra-axial spaces and disproportionate cerebellar hypoplasia
 - (c) MIC due to foetal brain disruption with unknown cause

(continued)

- Genetically defined with AR inheritance
- (d) Amish lethal microcephaly associated with mutations in *SLC25A19* at 17q25.1 (Rosenberg *et al.*, 2002)
- (e) MIC-capillary malformation syndrome (mutations in pending report)
- (7) MIC with LIS (MLIS)—cortex thick or relatively thick, smooth white–grey border
Clinically defined with AR inheritance
- (a) Barth MLIS syndrome
- (b) Norman–Roberts MLIS syndrome
- (c) MOPD1 variant with three-layer lissencephaly (Juric-Sekhar *et al.*, 2011)
- (d) MIC with lissencephaly, CBLH and Hirschsprung disease
- (8) MIC with tissue loss and enlarged ventricles (hydrocephalus ex vacuo or hydranencephaly), with/without cortical dysplasia and with/without ACC
Clinically defined with presumed extrinsic (non-genetic) cause
- (a) Foetal brain disruption sequence (Corona-Rivera *et al.*, 2001)
- Clinically defined with AR inheritance
- (b) Familial foetal brain disruption-like syndrome with unknown cause
- (c) Familial ‘microhydranencephaly’ with unknown cause (Behunova *et al.*, 2010)
- Genetically defined with AR inheritance
- (d) Familial ‘microhydranencephaly’ associated with mutations of *MHAC* at 16p13.13–p12.2 (Kavaslar *et al.*, 2000)
- (B) MEGALENCEPHALY (MEG) including both congenital and early postnatal
- (1) MEG with normal cortex (or presumably normal cortex)
Clinically defined with polygenic or AD inheritance
- (a) Familial MEG
Genetically defined with AD inheritance
- (b) Bannayan–Riley–Ruvalcaba syndrome, Cowden disease and MEG–autism with mutations in *PTEN* at 10q23.31 (Marsh *et al.*, 1997; Marsh *et al.*, 1999; Pilarski *et al.*, 2011)
- (c) Sotos syndrome with mutations in *NSD1* at 5q35.2–q35.3 (Türkmen *et al.*, 2003)
- (d) DD/ID, autism with *HEPACAM* mutations at 11q24.2 (AD, homozygous mutations cause AR megalencephaly with leukoencephalopathy and cysts) (López-Hernández *et al.*, 2011)
- (e) MEG, thumb anomalies and Weaver-like dysmorphism with dup 2p24.3 (includes *MYCN*)
Genetically defined with AR inheritance
- (f) MACS syndrome with mutations in *RIN2* at 20p11.23 (Basel-Vanagaite *et al.*, 2009)
Genetically defined with XL inheritance
- (g) Simpson–Golabi–Behmel syndrome 1 with mutations in *GPC3* at Xq26.2 (Pilia *et al.*, 1996)
- (h) Simpson–Golabi–Behmel syndrome 2 with mutations in *OFD1* at Xp22.2 (Budny *et al.*, 2006)
- (i) MEG with DD/ID and seizures with mutations in *RAB39B* at Xq28 (Giannandrea *et al.*, 2010)
Genetically defined with somatic mosaicism
- (j) Proteus syndrome caused by somatic activating mutation in *AKT1* at 14q32.33 (Lindhurst *et al.*, 2011)
- (2) MEG with PNH—plus other anomalies
Clinically defined with AD or unknown inheritance
- (a) MEG–PNH phenotype (Jan, 1999)
- (3) MEG with PMG and other cortical dysgenesis
Clinically defined with unknown cause
- (a) MCAP syndrome, includes MPPH (Mirzaa *et al.*, 2004; Conway *et al.*, 2007)
- (b) Thanatophoric dysplasia or Apert syndrome with mutation of *FGFR3* at 4p16.3 (six-layered PMG-like cortex) (Hevner, 2005)
- (C) CORTICAL DYSGENESIS WITH ABNORMAL CELL PROLIFERATION BUT WITHOUT NEOPLASIA
- (1) Diffuse cortical dysgenesis
Genetically defined with AR inheritance
- (a) PMSE syndrome with MEG, cortical dysgenesis including leptomeningeal glioneuronal heterotopia and cortical dyslamination with mutations in *STRADA* (*LYK5*) (Puffenberger *et al.*, 2007)
- (2) Focal and multifocal cortical and subcortical dysgenesis
Clinically defined with putative postzygotic mosaicism
- (a) HMEG isolated (Flores-Sarnat, 2002; Salamon *et al.*, 2006; Mathern *et al.*, 2007)
- (b) HMEG with neurocutaneous syndromes (Flores-Sarnat, 2002)
- (c) FCD Type II with large, dysmorphic neurons (FCDIIa) (Blümcke *et al.*, 2011)
- (d) FCD Type II with large, dysmorphic neurons and balloon cells (FCDIIb), including transmantle dysplasia and bottom of sulcus dysplasia (Blümcke *et al.*, 2011)

(continued)

- Genetically defined with AD inheritance
- (e) Tuberous sclerosis with cortical hamartomas and mutations of *TSC1* at 9q34.13 (Jones *et al.*, 1999; Crino *et al.*, 2006)
 - (f) Tuberous sclerosis with cortical hamartomas and mutations of *TSC2* at 16p13.3 (Jones *et al.*, 1999; Crino *et al.*, 2006)
 - (g) Tuberous sclerosis with HMEG (Galluzzi *et al.*, 2002)
- (D) CORTICAL DYSPLASIAS WITH ABNORMAL CELL PROLIFERATION AND NEOPLASIA
- (1) Neoplastic dysgenesis with primitive cells
 - (a) DNET
 - (2) Neoplastic dysgenesis with mature cells
 - (a) Ganglioglioma
 - (b) Gangliocytoma
- (II) MALFORMATIONS DUE TO ABNORMAL NEURONAL MIGRATION
- (A) MALFORMATIONS WITH NEUROEPENDYMAL ABNORMALITIES: PERIVENTRICULAR HETEROTOPIA
- (1) Anterior predominate and diffuse PNH

Clinically defined with unknown cause

 - (a) Diffuse PNH with/without sparing of temporal horns
 - (b) Diffuse PNH composed of micronodules
 - (c) Diffuse PNH with frontonasal dysplasia (Guerrini and Dobyns, 1998)
 - (d) Anterior predominant PNH
 - (e) Unilateral or bilateral isolated PNH

Genetically defined with AD inheritance (new mutations)

 - (g) Anterior PNH with duplication 5p15.1 (Sheen *et al.*, 2003)
 - (h) Anterior or diffuse PNH with duplication 5p15.33 (Sheen *et al.*, 2003)
 - (i) Diffuse (but variable) PNH with del 6q27 (W.B.D, in preparation)
 - (j) PNH and Williams syndrome with del 7q11.23, including *HIP1* and *YWHAG* (Ferland *et al.*, 2006; Ramocki *et al.*, 2010)
 - (k) PNH with del 4p15 (gene not identified) (Gawlik-Kuklinska *et al.*, 2008)
 - (l) PNH with deletion 5q14.3–q15 (Cardoso *et al.*, 2009)
 - (m) PNH and agenesis of the corpus callosum with del 1p36.22-pter (Neal *et al.*, 2006)

Genetically defined with XL inheritance

 - (n) Bilateral PNH due to mutations of *FLNA*, with/without Ehlers–Danlos (Sheen *et al.*, 2001; Parrini *et al.*, 2006)
 - (o) PNH and Fragile X syndrome (Moro *et al.*, 2006)
 - (2) Posterior predominant (temporal-trigonal) PNH

Clinically defined with unknown cause

 - (a) Posterior PNH only
 - (b) Posterior PNH with hippocampal dysgenesis, colpocephaly, anomalies of midbrain tectum or cerebellar hypoplasia
 - (c) Posterior PNH with posterior PMG (Wieck *et al.*, 2005)
 - (3) Periventricular heterotopia, not nodular (unilateral or bilateral)

Clinically defined with unknown cause

 - (a) Diffuse PLH
 - (b) Frontal predominant PLH
 - (c) Posterior predominant PLH
 - (4) Ribbon-like heterotopia, bilateral undulating heterotopic band

Clinically defined with unknown cause

 - (a) Posterior predominant ribbon-like heterotopia
 - (b) Diffuse ribbon-like heterotopia
- (B) MALFORMATIONS DUE TO GENERALIZED ABNORMAL TRANSMANTLE MIGRATION (radial and non-radial)
- (1) Anterior predominant or diffuse classic (four-layered) LIS and SBH

Clinically defined with unknown cause

 - (a) Anterior predominant LIS with abrupt transition and cerebellar hypoplasia (previously LCHe)
 - (b) Anterior predominant or diffuse LIS (ILS)

Clinically defined with AR inheritance

 - (c) Anterior predominant LIS (ILS) with AR inheritance
 - (d) Winter–Tsukahara syndrome (Levin *et al.*, 1993)

Clinically defined with AD (new mutation) inheritance

 - (e) Baraitser–Winter syndrome with anterior or diffuse LIS–SBH (Rossi *et al.*, 2003)
 - (f) Anterior predominant LIS (ILS) or SBH with *DCX* mutation at Xq22.3–q23 (Dobyns *et al.*, 1999)

(continued)

- (2) Posterior predominant or diffuse classic (four-layered) and two-layered (without cell-sparse zone) LIS and SBH
Clinically defined with unknown cause
- Posterior predominant or diffuse LIS with brainstem and cerebellar hypoplasia, with/without ACC (includes former LCHa, LCHc, LCHd, LCHf (Ross *et al.*, 2001))
 - Posterior predominant or diffuse LIS (ILS) (Pilz *et al.*, 1998, Dobyns *et al.*, 1999)
 - Diffuse LIS with hair and nail anomalies (Celentano *et al.*, 2006)
 - Perisylvian (central) pachygyria (ILS)
 - Ribbon like deep white matter heterotopia with/without ACC, thin overlying cortex
Clinically defined with AD inheritance
 - Posterior predominant SBH (Deconinck *et al.*, 2003)
Genetically defined with AD inheritance (new mutation)
 - Posterior or diffuse LIS with cerebellar hypoplasia or LIS (ILS) with *TUBA1A* mutations at 12q12-q14 (Poirier *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2010)
 - Miller-Dieker syndrome (four-layered) with deletion 17p13.3 (*YWHAE* to *LIS1*) (Dobyns *et al.*, 1991)
 - Posterior or diffuse LIS (ILS, four-layered) or posterior SBH with *LIS1* deletions or mutations at 17p13.3 (Dobyns *et al.*, 1993; Pilz *et al.*, 1999)
- (3) X-linked lissencephaly (three-layered, without cell-sparse zone) with callosal agenesis, ambiguous genitalia (XLAG)
Clinically defined with unknown cause
- XLAG-like syndrome with temporal-posterior predominant LIS, ACC, microphthalmia and midline cleft lip and palate
 - XLAG with temporal-posterior predominant LIS and ACC with mutations in *ARX* at Xp22.13 (Bonneau *et al.*, 2002)
- (4) Reelin-type LIS (inverted cortical lamination, without cell-sparse zone)
Clinically defined with AR inheritance
- Frontal predominant mild LIS with severe hippocampal and CBLH (Kato *et al.*, 1999)
Genetically defined with AR inheritance
 - Frontal predominant mild LIS with severe hippocampal and CBLH with *RELN* mutation at 7q22 (Hong *et al.*, 2000)
 - Frontal predominant mild LIS with severe hippocampal and CBLH with *LDLR* mutation at 9p24 (Boycott *et al.*, 2005)
- (5) Variant LIS (other rare types exist but are poorly characterized)
- (C) MALFORMATIONS PRESUMABLY DUE TO LOCALIZED ABNORMAL LATE RADIAL OR TANGENTIAL TRANSMANTLE MIGRATION
- Subcortical heterotopia (other than band heterotopia or cortical infolding), all clinically defined with unknown cause
 - Curvilinear transmantle heterotopia, with thinning of overlying cortex, decreased volume of affected hemisphere, with/without ACC, with/without basal ganglia anomalies (Barkovich, 1996)
 - Multinodular subcortical heterotopia with thin overlying cortex, with/without PMG (Barkovich, 2000)
 - Transmantle columnar heterotopia with/without PNH
 - Sublobar Dysplasia, clinically defined with unknown cause (Tuxhorn *et al.*, 2009)
- (D) MALFORMATIONS DUE TO ABNORMAL TERMINAL MIGRATION AND DEFECTS IN PIAL LIMITING MEMBRANE
- Dystroglycan-laminin complex abnormalities with cobblestone malformation complex (COB), with or without congenital muscular dystrophy
Clinically defined with AR inheritance but causative gene unknown
 - Walker-Warburg syndrome (Dobyns *et al.*, 1985, 1997)
 - Muscle-eye-brain syndrome (Santavuori *et al.*, 1989; Haltia *et al.*, 1997)
 - Congenital muscular dystrophy with CBLH (Italian MEB)
Genetically defined with frontal predominant COB and AR inheritance
 - WWS or MEB with *POMT1* mutation at 9q34.1 (Beltran-Valero de Bernabe *et al.*, 2002; van Reeuwijk *et al.*, 2006)
 - WWS or MEB with *POMT2* mutation at 14q24.3 (van Reeuwijk *et al.*, 2005; Mercuri *et al.*, 2006)
 - MEB with *POMGnT1* mutation at 1p34-p33 (Manya *et al.*, 2003)
 - WWS, FCMD or FCMD with retinal abnormality (MEB-like) with *FKTN* mutation at 9q31 (Beltran-Valero de Bernabe *et al.*, 2003, Manzini *et al.*, 2008, Yoshioka, 2009, Yis *et al.*, 2011)
 - WWS or MEB with *FKRP* mutation at 19q13.3 (Beltran-Valero de Bernabe *et al.*, 2004)
 - WWS or MEB with *LARGE* mutation at 22q12.3-q13.1 (van Reeuwijk *et al.*, 2007)
Genetically defined with posterior predominate COB and AR inheritance
 - Posterior predominant COB and CMD with *LAMA1A* mutation at 18p11.31
 - Posterior predominant COB with *LAMC3* mutation at 9q33-q34 (lacks CMD) (Barak *et al.*, 2011)
 - Cobblestone malformations in CDG
Genetically defined with AR inheritance
 - CHIME-like syndrome with frontal predominant COB with *SRD5A3* mutation at 4q12 (Al-Gazali *et al.*, 2008; Cantagrel *et al.*, 2010)

(continued)

- (b) Debré-type cutis laxa with frontal predominant COB and *ATP6V0A2* mutation at 12q24.3 (Kornak *et al.*, 2008; Van Maldergem *et al.*, 2008)
- (3) Cobblestone malformation with no known glycosylation defect
 - (a) Frontal predominant COB with *GPR56* mutations at 16q13 ('bilateral frontoparietal polymicrogyria') (Piao *et al.*, 2002, 2005)
 - (b) Walker-Warburg syndrome secondary to *COL4A1* mutations at 13q34 (Labelle-Dumais *et al.*, 2011)
- (4) Other syndromes with cortical dysgenesis and marginal glioneuronal heterotopia, but with normal cell types
 - Clinically defined with extrinsic or unknown cause
 - (a) Foetal alcohol syndrome
Clinically defined with AR inheritance
 - (b) Galloway–Mowat syndrome
- (III) MALFORMATIONS DUE TO ABNORMAL POSTMIGRATIONAL DEVELOPMENT
 - (A) MALFORMATIONS WITH PMG OR CORTICAL MALFORMATIONS RESEMBLING PMG
 - (1) PMG (classic) with transmantle clefts (schizencephaly) or calcification
 - Clinically defined with clefts suggesting vascular pathogenesis or unknown cause
 - (a) Schizencephaly (Barkovich and Kjos, 1992)
 - (b) Septo-optic dysplasia with schizencephaly (Barkovich *et al.*, 1989)
Clinically defined with prenatal viral exposure (especially CMV)
 - (c) Schizencephaly with positive neonatal CMV testing (Iannetti *et al.*, 1998)
 - (d) Diffuse or patchy PMG with periventricular calcifications and positive neonatal CMV testing
 - (e) Diffuse, patchy or perisylvian PMG with hearing loss and positive neonatal CMV testing
Clinically defined with AR inheritance
 - (f) Familial schizencephaly with single unilateral or bilateral clefts (Haverkamp *et al.*, 1995)
 - (g) Familial schizencephaly with multiple bilateral clefts
 - (h) Band-like calcifications with PMG (pseudo-TORCH) (Briggs *et al.*, 2008)
Genetically defined with AR inheritance
 - (i) Band-like calcifications with PMG (pseudo-TORCH) with mutations of *OCLN1* at 5q13.2 (O'Driscoll *et al.*, 2010)
 - (2) Polymicrogyria without clefts or calcifications classified by location
 - Clinically defined bilateral PMG without clefts of unknown cause
 - (a) Generalized PMG (Chang *et al.*, 2004)
 - (b) Frontal PMG (Guerrini *et al.*, 2000)
 - (c) Perisylvian PMG (Kuzniecky *et al.*, 1993)
 - (d) Posterior PMG (lateral parieto-occipital) (Barkovich *et al.*, 1999)
 - (e) Parasagittal PMG
 - (f) Parasagittal mesial occipital PMG (Guerrini *et al.*, 1997)
Clinically defined unilateral PMG without clefts of unknown cause
 - (g) Hemispheric PMG (Chang *et al.*, 2006)
 - (h) Perisylvian PMG (Chang *et al.*, 2006)
 - (i) Focal PMG (Barkovich, 2010a)
 - (3) Syndromes with PMG (neuropathology may differ from classic PMG)
 - Clinically defined syndromes with AD inheritance
 - (a) Adams–Oliver syndrome AD form (Snape *et al.*, 2009)
Clinically defined syndromes with AR inheritance
 - (b) Adams–Oliver syndrome AR form (Snape *et al.*, 2009)
 - (c) Joubert syndrome and related disorders with PMG, includes Meckel–Gruber, Arima (cerebro-oculo-renal) and Joubert syndromes with causative genes unknown (Gleeson *et al.*, 2004)
Clinically defined syndromes with XL inheritance (probable)
 - (d) Aicardi syndrome (Aicardi, 2005)
 - (e) Oculocerebrocutaneous (Delleman) syndrome (Moog *et al.*, 2005)
Genetically defined with AD inheritance (new mutations)
 - (f) Fronto-parietal PMG, variable ACC and delayed myelination of anterior limb internal capsule with *TUBB2B* mutations at 6p25.2 (Jaglin *et al.*, 2009)
 - (g) Fronto-parietal PMG, variable with *TUBB3* mutations at 16q24.3 (Poirier *et al.*, 2010)
 - (h) Knobloch syndrome with high myopia, vitreoretinal degeneration, retinal detachment, occipital cephalocele and variable PMG with *COL18A1* mutations at 21q22.3 (Sertié *et al.*, 2000)
 - (i) Aniridia, variable temporal PMG, absent anterior commissure and pineal gland, and variable CBLH with *PAX6* mutations at 11p13 (Mitchell *et al.*, 2003; Graziano *et al.*, 2007)
 - (j) Perisylvian PMG with deletion 1p36.3 (gene not identified) (Dobyns *et al.*, 2008)
 - (k) Perisylvian PMG with deletion 22q11.2 (gene not identified) (Cramer *et al.*, 1996)

(continued)

- Genetically defined with AR inheritance
- (l) Goldberg–Shprintzen (megacolon) syndrome with mutations of *KIAA1279* at 10q22.1 (Brooks *et al.*, 2005)
 - (m) Joubert syndrome with variable (low penetrance) PMG and *AHI1* mutations at 6q23.3 (Dixon-Salazar *et al.*, 2004; Valente *et al.*, 2006)
 - (n) Meckel–Gruber syndrome with variable (low penetrance) PMG and *TMEM216* mutations at 11q12.2 (Valente *et al.*, 2010)
 - (o) Generalized (versus perisylvian) PMG, ACC and optic nerve hypoplasia with *TUBA8* mutations at 22q11.21 (Abdollahi *et al.*, 2009)
 - (p) Perisylvian PMG, ACC, delayed myelination of anterior limb internal capsule and cerebellar vermician hypoplasia with mutation of *TBR2* (*EOMES*) at 3p24.1 (Baala *et al.*, 2007)
 - (q) Warburg Micro syndrome with mutations of *RAB3GAP1* at 2q21.3 (Morris-Rosendahl *et al.*, 2010)
 - (r) Warburg Micro syndrome with mutations of *RAB3GAP2* at 1q41 (Borck *et al.*, 2011)
 - (s) Warburg Micro syndrome with mutations of *RAB18* at 10p12.1 (Bem *et al.*, 2011)
- Genetically defined with XL inheritance
- (t) Perisylvian PMG, rolandic seizures and speech-language dyspraxia with *SRPX2* at Xq22.1 mutations (Roll *et al.*, 2006, 2010)
 - (u) Perisylvian PMG, mild MIC and thin body habitus with *NSDHL* mutation at Xq28 (McLarren *et al.*, 2010)
 - (v) Perisylvian PMG with Xq27 locus (gene not identified) (Santos *et al.*, 2008)
 - (w) Perisylvian PMG with Xq28 locus (gene not identified) (Villard *et al.*, 2002)
- (B) CORTICAL DYSGENESIS SECONDARY TO INBORN ERRORS OF METABOLISM (neuropathology differs from classic PMG)
Genetically and biochemically defined with AR inheritance
- (1) Mitochondrial and pyruvate metabolic disorders
 - (a) Non-ketotic hyperglycaemia with mutations of *GLDC* at 9p24.1, *GCSH* at 16q23.2 or *AMT* at 3p21.31
 - (b) Multiple Acyl-CoA dehydrogenase deficiency (Glutaric aciduria type II) with mutations of *ETFA* at 15q24.2-q24.3, *ETFB* at 19q13.41 or *ETFDH* at 4q32.1 (Govaert *et al.*, 2004)
 - (2) Peroxisomal disorders
 - (a) Zellweger syndrome with mutation of many genes involved in peroxisomal biogenesis (Volpe and Adams, 1972; Steinberg *et al.*, 2006)
 - (b) Neonatal adrenoleukodystrophy with mutation of many genes involved in peroxisomal biogenesis (Kamei *et al.*, 1993)
 - (c) D-Bifunctional protein deficiency with *HSD17B4* mutation at 5q2 (Grønborg *et al.*, 2010)
- (C) FOCAL CORTICAL DYSPLASIAS (WITHOUT DYSMORPHIC NEURONS) DUE TO LATE DEVELOPMENTAL DISTURBANCES
Clinically/histologically defined and sporadic
- (1) Minor malformations of Cortical Development (mMCD)
 - (2) Type I FCD
 - (a) Abnormal radial cortical lamination (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (b) Abnormal tangential cortical lamination (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (c) Abnormal radial and tangential lamination (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (3) Type III FCD
 - (a) Associated with hippocampal sclerosis (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (b) Associated with tumors (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (c) Associated with vascular malformations (Blümcke *et al.*, 2011)
 - (d) Associated with other principal lesions during early life (Blümcke *et al.*, 2011)
- (D) POSTMIGRATIONAL DEVELOPMENTAL MICROCEPHALY (PREVIOUSLY POSTNATAL MIC) WITH BIRTH OFC –3 SD OR LARGER, LATER OFC BELOW –4 SD AND NO EVIDENCE OF BRAIN INJURY
- (1) Postmigrational MIC with limited functional deficits
Clinically defined
 - (a) Postmigrational MIC with no cause or syndrome identified
 - Genetically defined with AD inheritance (sporadic new mutations)
 - (b) MIC and mild ID with *SHH* mutation (Ginocchio *et al.*, 2008)
 - (c) MIC and variable ACC with deletion 1q43q44 (includes *AKT3*) (Hill *et al.*, 2007)
 - (2) Postmigrational MIC with broad functional deficits consistent with a ‘developmental encephalopathy’ (Angelman-like, Rett-like class of disorders)
Clinically defined with AR inheritance
 - (a) PEHO syndrome (Salonen *et al.*, 1991; Vanhatalo *et al.*, 2002)
 - Genetically defined with AD inheritance (sporadic new mutations)
 - (b) Pitt–Hopkins syndrome with mutations of *TCF4* at 18q21.1 (Zweier *et al.*, 2007)
 - (c) FOXP1 syndrome with deletions or mutations of *FOXP1* at 14q13 (Kortüm *et al.*, 2011)
 - (d) Duplication of FOXP1 at 14q13 (Brunetti-Pierri *et al.*, 2011)

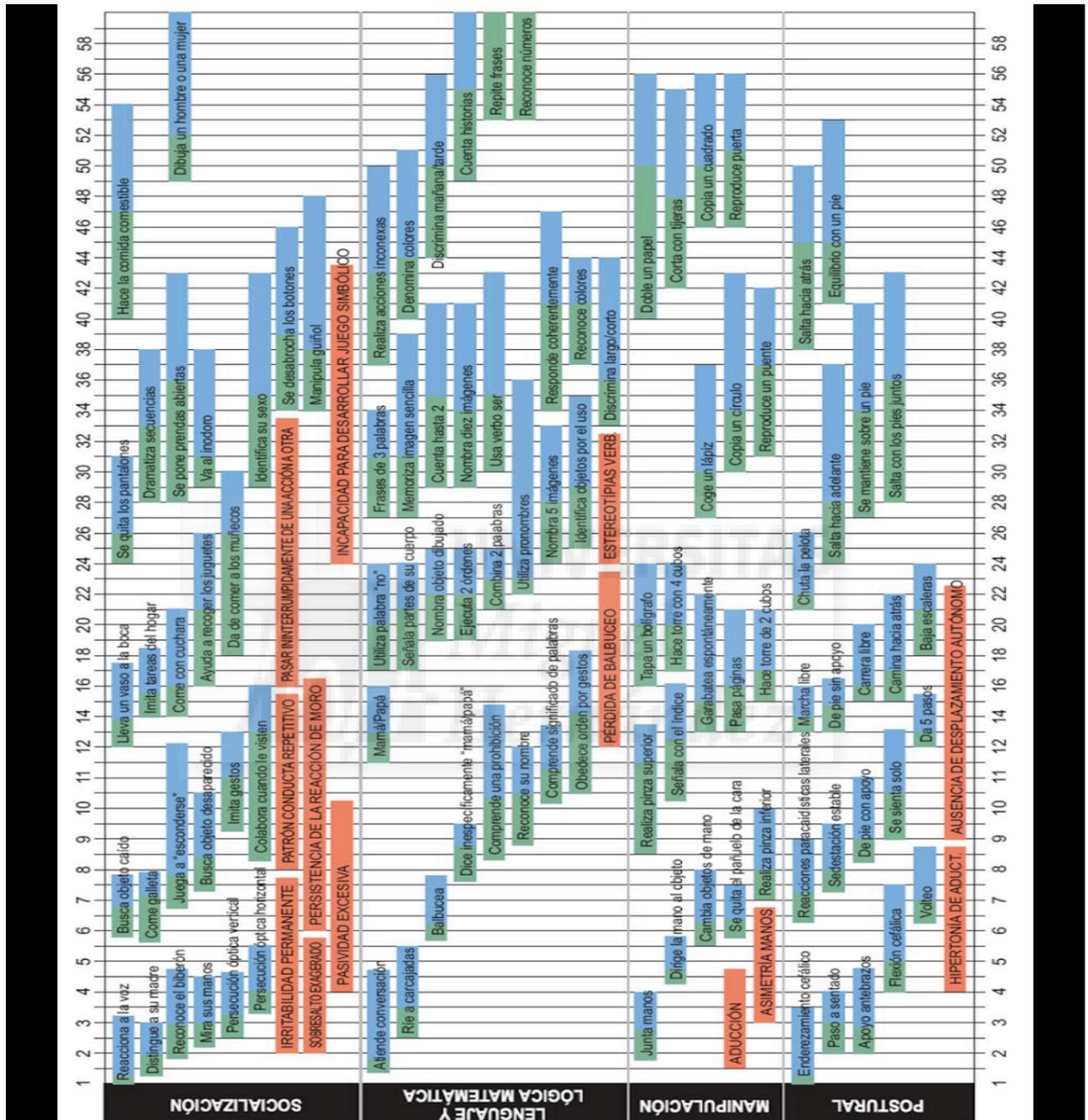
(continued)

- Genetically defined with AD inheritance (or pathogenic *de novo* copy number variant) and imprinting effects
- (e) Maternal duplication 15q11.2 (Kitsiou-Tzeli *et al.*, 2010)
 - (f) Angelman syndrome with maternally deletion 15q11.2 or mutation of *UBE3A* at 15q11.2 (Matsuura *et al.*, 1997)
- Genetically defined with AR inheritance
- (g) Pitt–Hopkins like syndrome with mutations of *NRXN1* at 2p16.3 (Zweier *et al.*, 2009)
 - (h) Pitt–Hopkins-like syndrome with mutations of *CNTNAP2* at 7q35-q36 (Zweier *et al.*, 2009)
 - (i) Pontocerebellar hypoplasia with mutations of *TSEN54* at 17q25.1, *TSEN2* at 3p25.1, *TSEN34* at 19q13.4, *RARS2* at 6q16.1 (Namavar *et al.*, 2011)
- Genetically defined with XL inheritance
- (j) Rett syndrome with mutations of *MECP2* at Xq28 (Amir *et al.*, 1999)
 - (k) Angelman-like syndrome with mutations of *SLC9A6* at Xq26.3 (Gilfillan *et al.*, 2008)
 - (l) X-linked mental retardation and autistic features with mutations of *JARID1C* at xp11.22–p11.21 (Jensen *et al.*, 2005; Abidi *et al.*, 2008)
 - (m) X-linked MIC with disproportionate cerebellar hypoplasia with mutations of *CASK* at Xp11.4 (in females) (Najm *et al.*, 2008)

ACC = agenesis of corpus callosum; AD = autosomal dominant inheritance; AR = autosomal recessive inheritance; CBLH = cerebellar hypoplasia; CDG = congenital disorders of glycosylation; CHIME = coloboma, heart defect, ichthyosiform dermatosis, mental retardation, ear anomalies; CMD = congenital muscular dystrophy; CMV = cytomegalovirus; COB = cobblestone complex; DD/ID = developmental delay/intellectual disability; DNET = dysembryoplastic neuroepithelial tumour; FCMD = Fukuyama congenital muscular dystrophy; HMEG = hemimegalencephaly; ILS = isolated lissencephaly syndrome; IUGR = intrauterine growth retardation; LCH = lissencephaly with cerebellar hypoplasia; LIS = lissencephaly; MACS = macrocephaly, alopecia, cutis laxa, scoliosis; MAP = microcephaly with asymmetric polymicrogyria; MCPH = autosomal recessive primary microcephaly; MDP = microcephaly with diffuse polymicrogyria; MEB = muscle–eye–brain syndrome; MEG = megalencephaly; MIC = microcephaly; MLIS = microcephaly with lissencephaly; MOPD = microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism syndrome; MPPH = megalencephaly with polymicrogyria, polydactyly and hydrocephalus; PEHO = progressive encephalopathy with oedema, hypersarhythmia and optic atrophy; PLH = periventricular laminar heterotopia; PMG = polymicrogyria; PMSE = polyhydramnios, megalencephaly and symptomatic epilepsy; PNH = periventricular nodular heterotopia; SBH = subcortical band heterotopia; SIMP = simplified gyral pattern; WWS = Walker–Warburg syndrome; XL = X-linked inheritance; XLAG = X-linked lissencephaly with agenesis of corpus callosum and ambiguous genitalia.



8.2 Anexo 2: Tabla de desarrollo (0-5 años) Haizea-Llevant



Fernández-Álvarez E, Fernández-Matamoras I, Fuentes Biggi J. Tabla de desarrollo psicomotor (0-5 años) Haizea-Llevant. País Vasco: Servicio de publicaciones del Gobierno. 1991

8.3 Anexo 3: Signos de alerta del Retraso psicomotor (50)

SIGNOS DE ALERTA MORFOLÓGICOS

Fenotipo peculiar (hipertelorismo, pabellones auriculares displásicos, anomalías nasales...)

Estigmas cutáneos (manchas acrómicas, manchas café con leche, anomalías en la pigmentación)

Crecimiento anormal del perímetro craneal (microcefalia, macrocefalia)

Fontanela tensa, anomalías de suturas

Ojos en sol poniente, cataratas, opacidad cortical...

Pelo peculiar

Anomalías en extremidades

Organomegalias. Hipogonadismo. Otros

SIGNOS DE ALERTA SENSORIALES

Movimientos oculares anormales

Ausencia de seguimiento visual

Escaso interés por las personas u objetos

Escasa o nula reacción a la voz o sonidos

Falta de orientación hacia la fuente de sonido a los 6 meses

Retraso del lenguaje

SIGNOS DE ALERTA MOTORES

No control cefálico a los 4 meses

No sedestación a los 9 meses

Ausencia de desplazamiento autónomo a los 10 meses

Ausencia de marcha autónoma a los 16-18 meses

Trastornos del tono muscular (hipotonía, hipertonía)

Pulgar en aducción (más si es unilateral después de los 2 meses)

Asimetrías en las posturas o en la actividad

No agarra un objeto a partir de los 5 meses

Movimientos anormales (temblor, distonía, dismetría)

Desarrollo psicomotor atípico (desplazamiento sentado *shuffling*, desplazamiento rodando sobre sí mismo, marcha en puntillas...)

SIGNOS DE ALERTA DEL LENGUAJE

Ausencia de vocalizaciones recíprocas en los primeros meses

Escasa reacción a la voz materna

No gira la cabeza al sonido

Falta de balbuceo en el segundo trimestre

Ausencia de bisílabos a los 18 meses

No comprende órdenes sencillas a los 18 meses

No señala partes de la cara a los 2 años

Ausencia de lenguaje propositivo a los 2 años

Esterotipias verbales o ecolalias desde los 2 años

No dice ninguna frase a los 30 meses

SIGNOS DE ALERTA COGNITIVOS

Ausencia de viveza en la mirada

Sin sonrisa social (3 meses)

Escaso interés por personas y objetos

Escasa reacción ante caras o voces familiares

No extraña (12 meses)

No imita gestos (12 meses)

No comprende prohibiciones (12 meses)

No señala con el índice (12 meses)

No comprende órdenes sencillas (15 meses)

No realiza juego imitativo (18 meses)

Conducta o juego estereotipado

SIGNOS DE ALERTA DE CONDUCTA

Irritabilidad, apatía, pasividad

Ausencia de sonrisa social y expresividad facial

Rechazo del contacto físico

Falta de interés por el entorno o las personas que lo cuidan

Autoestimulación/autoagresión

Juego estereotipado, ausencia de juego imitativo

Aislamiento, timidez extrema

Crisis de ansiedad, baja tolerancia a las frustración

Cambio continuo de actividad

Conducta desorganizada, oposicionista

8.4 Anexo 4: Recogida de datos clínicos. Otras pruebas complementarias realizadas

- Otras Pruebas de imagen:
 - o Rx tórax, Rx columna, Ecografía abdominal, Ecocardiografía, Ecografía transfontanelar, RM medular...
- Estudios Neurofisiológicos:
 - o EEG, EMG, ENG, PEAT, PEV...
- Estudios Genéticos:
 - o Cariotipo de alta resolución, CGH-array (60 o 180k), estudio molecular de Síndrome de X-frágil, Genética de Ataxias-cerebelosas, Estudios genéticos de hipotonía...
- Estudios Neurometabólicos:
 - o Aminoácidos, ácidos orgánicos, MPS en orina de 24h
 - o Aminoácidos, acylcarnitinas... en sangre

8.5 Anexo 5: Resultados. Pacientes excluidos

Nº Caso	Motivo de exclusión
8	Enfermedad Hipóxico Isquémica
12	Síndrome de Pallister-Killian
14	Enfermedad Hipóxico Isquémica
41	Enfermedad Hipóxico Isquémica
42	Encefalopatía progresiva no filiada
43	Enfermedad Hipóxico Isquémica
46	Síndrome de Wolf-Hirschhorn. Microdelección subtelomérica en el brazo corto del cromosoma 4 (4p-) y duplicación 11p
53	Infección perinatal por Citomegalovirus (CMV)
59	Homocistinuria
66	Duplicación 1q21.1 y duplicación 15 q11.2
69	Microdelección subtelomérica del brazo corto del cromosoma 17,
70	Espina bífida. Malformación Arnold-Chiari II
92	Enfermedad Hipóxico Isquémica
97	Enfermedad de Hallervorden-Spatz.
110	Trisomía del Cromosoma 18. Síndrome de Edwards
113	Síndrome Cardio-Facio-Cutáneo

8.6 Anexo 6: Mutaciones encontradas en función del motivo de consulta

CASO N°	RPM	TRASTORNO DE CONDUCTA		EPILEPSIA	DIFICULTADES APRENDIZAJE
		TEA	TDAH		
3	LIS1 HLIS5				
5	D17S79-2 HLIS2				
7					EN2
9	D17S1866 HLIS2				
10			D17S1866		
15				HLIS3 HLIS2	
16	LIS1 HLIS1 EN2				
17	HLIS3 EN2				
18					HLIS2
19					HLIS3
20				HLIS2	
21	EN2				
23	HLIS2 PTAFR				
26	PTAFR				
27	D17S79-2 PTAFR				
28				EN2	
29	HLIS3				
31	HLIS3				
32	PTAFR				
34				D17S1866	
35	LIS1				
37	D17S1866				
38	D17S5 HLIS2				
39					PTAFR
47					HLIS7
49	LIS1 HLIS1 EN2				

62	<i>HLIS2</i>				
63	<i>D17S5</i>				
71	<i>EN2</i>				
72	<i>HLIS3</i>	<i>HLIS3</i>			
73	<i>D17S1566</i>				
75	<i>HLIS1</i>				
76			<i>D17S1566</i> <i>LIS1</i>		
78				<i>HLIS2</i>	
80	<i>D17S1566</i>				
85				<i>EN2</i>	
89	<i>D17S5</i> <i>EN2</i>				
90	<i>CRK</i>				
98	<i>LIS1</i>				
99	<i>EN2</i>				
100	<i>EN2</i>				
101	<i>PAFAH1B</i>	<i>PAFAH1B</i>			
103	<i>LIS1</i> <i>EN2</i>				
104				<i>CRK</i>	
106	<i>D17S1566</i>				
109		<i>D17S1566</i>			

8.7 Anexo 7: Alteraciones genéticas halladas en cada Caso

CASO N°	MUTACIONES DNA LIS	ALTERACIONES EN LA TRANSCRIPCIÓN	MUTACIONES EN GENES RELACIONADOS
3		<i>LIS1; HLIS5</i>	
5	<i>D17S79-2</i>	<i>HLIS2</i>	
7			<i>EN2</i>
9	<i>D17S1866</i>	<i>HLIS2</i>	
10	<i>D17S1866</i>		
15		<i>HLIS3; HLIS2</i>	
16		<i>LIS1; HLIS1</i>	<i>EN2</i>
17		<i>HLIS3</i>	<i>EN2</i>
18		<i>HLIS2</i>	
19		<i>HLIS3</i>	
20		<i>HLIS2</i>	
21			<i>EN2</i>
23		<i>HLIS2</i>	<i>PTAFR</i>
26			<i>PTAFR</i>
27	<i>D17S79-2</i>		<i>PTAFR</i>
28			<i>EN2</i>
29		<i>HLIS3</i>	
31		<i>HLIS3</i>	
32			<i>PTAFR</i>
34	<i>D17S1866</i>		
35		<i>LIS1</i>	
37	<i>D17S1866</i>		
38	<i>D17S5</i>	<i>HLIS2</i>	
39			<i>PTAFR</i>
47		<i>HLIS7</i>	
49		<i>LIS1; HLIS1</i>	<i>EN2</i>
62		<i>HLIS2</i>	
63	<i>D17S5</i>		
71			<i>EN2</i>
72		<i>HLIS3</i>	
73	<i>D17S1566</i>		
75		<i>HLIS1</i>	
76	<i>D17S1566</i>	<i>LIS1</i>	
78		<i>HLIS2</i>	
80	<i>D17S1866</i>		
85			<i>EN2</i>

89	<i>D17S5</i>		<i>EN2</i>
90			<i>CRK</i>
98		<i>LIS1</i>	
99			<i>EN2</i>
100			<i>EN2</i>
101			<i>PAFAH1B</i>
103		<i>LIS1</i>	<i>EN2</i>
104			<i>CRK</i>
106	<i>D17S1566</i>		
109	<i>D17S1566</i>		
N=46	14	23	20

 Sexo femenino



8.8 Anexo 8: Desglose de las mutaciones halladas en cada paciente en función del cuadro clínico.

CASO N°	RM LEVE	RM MODERADO/ GRAVE	RETRASO MOTOR	TRASTORNO DE CONDUCTA			EPILEPSIA
				TEA	TDAH	Otros	
3		LIS1 HLIS5	LIS1 HLIS5				
5		D17S79-2 HLIS2	D17S79-2 HLIS2		D17S79-2 HLIS2		
7	EN2						
9	D17S1866 HLIS2					D17S1866 HLIS2	D17S1866 HLIS2
10	D17S1866				D17S1866		
15							HLIS3 HLIS2
16		LIS1 HLIS1 EN2					
17	HLIS3 EN2				HLIS3 EN2		HLIS3 EN2
18							HLIS2
19					HLIS3		HLIS3
20							HLIS2
21		EN2	EN2				
23							HLIS2 PTAFR
26					PTAFR		PTAFR
27		D17S79-2 PTAFR	D17S79-2 PTAFR				
28							EN2
29	HLIS3						
31		HLIS3				HLIS	
32	PTAFR						
34	D17S1866		D17S1866				D17S1866
35		LIS1	LIS1				LIS1
37		D17S1866	D17S1866				D17S1866
38			D17S5 HLIS2				D17S5 HLIS2
39							PTAFR

47	HLIS7						HLIS7
49		LIS1 HLIS1 EN2	LIS1 HLIS1 EN2				LIS1 HLIS1 EN2
62	HLIS2						
63		D17S5					D17S5
71	EN2						
72	HLIS3			HLIS3			
73			D17S1566				
75							HLIS1
76	D17S1566 LIS1				D17S1566 LIS1		D17S1566 LIS1
78				HLIS2			HLIS2
80	D17S1866						
85							EN2
89	D17S5 EN2		D17S5 EN2				
90			CRK				
98	LIS1						
99	EN2			EN2			
100	EN2						
101	PAFAH1B3			PAFAH1B3			
103	LIS1 EN2						
104							CRK
106			D17S1566				D17S1566
109		D17S1566		D17S1566			

8.9 Anexo 9: Desglose de las mutaciones halladas en cada caso en función de la alteración estructural de la RMN

CASO Nº	ALTERACIÓN VENTRICULAR	LESIONES FOCALES			ATROFIA CÓRTICO-SUBCORTICAL	LISENCEFALIA	ALT. SUSTANCIA BLANCA	ANOMALÍAS LÍNEA MEDIA	MALF. FOSA POST
		IZQ	DCHA	BILAT					
3	LIS1 HLIS5				LIS1 HLIS5				
5							D17S79-2 HLIS2	D17S79-2 HLIS2	
7								EN2	
9	D17S1866 HLIS2					D17S1866 HLIS2			
10		D17S1866							
15			HLIS3 HLIS2						
16	LIS1 HLIS1 EN2					LIS1 HLIS1 EN2	LIS1 HLIS1 EN2	LIS1 HLIS1 EN2	
17	HLIS3 EN2				HLIS3 EN2		HLIS3 EN2		
18		HLIS2							
19					HLIS3				
20		HLIS2							
21					EN2				
23				HLIS2 PTAFR					
26	PTAFR								
27	D17S79-2 PTAFR				D17S79-2 PTAFR			D17S79-2 PTAFR	
28				EN2					
29				HLIS3			HLIS3		
31	HLIS3								
32								PTAFR	
34			D17S1866						
35			LIS1						
37							D17S1866		
38			D17S5 HLIS2						
39						PTAFR			
47	HLIS7						HLIS7		
49	LIS1								

	<i>HLIS1</i> <i>EN2</i>								
62	<i>HLIS2</i>							<i>HLIS2</i>	<i>HLIS2</i>
63		<i>D17S5</i>			<i>D17S5</i>				
71					<i>EN2</i>				
72	<i>HLIS3</i>								
73					<i>D17S1566</i>				
75		<i>HLIS1</i>							
76	<i>D17S1566</i> <i>LIS1</i>								
78					<i>HLIS2</i>				
80								<i>D17S1866</i>	
85	<i>EN2</i>								
89							<i>D17S5</i> <i>EN2</i>		
90					<i>CRK</i>				
98	<i>LIS1</i>								
99				<i>EN2</i>					
100							<i>EN2</i>		
101	<i>PAFAH1B</i>								
103							<i>LIS1</i> <i>EN2</i>		
104				<i>CRK</i>	<i>CRK</i>			<i>CRK</i>	
106							<i>D17S1566</i>		
109							<i>D17S1566</i>		