

Genetica e malformazioni cerebrali associate ad epilessia

Genetics and brain malformations associated with epilepsy

R. GUERRINI, C. MARINI, E. PARRINI

Unità di Epilessia, Neurofisiologia e Neurogenetica, Dipartimento di Neuroscienze dello Sviluppo, Università di Pisa e IRCCS Fondazione "Stella Maris", Pisa, Italia

PAROLE CHIAVE. — Malformazioni corticali - Eterotopia nodulare periventricolare - Lissencefalia - Polimicrogiria - Epilessia

KEY WORDS. — *Cortical malformations - Periventricular Nodular heterotopia - Lissencephaly - Polymicrogyria - Epilepsy*

*Per invito
Invited article*

Summary

The malformations of the cerebral cortex represent a major cause of developmental disabilities, severe epilepsy and reproductive disadvantage. Several malformation syndromes have been recognised and specific causative gene defects have been identified.

X-linked periventricular nodular heterotopia (PNH) is mainly seen in females and is often associated with focal epilepsy. FLNA mutations have been reported in all familial cases and in about 25% of sporadic patients. A rare recessive form of PNH due to ARFGEF2 gene mutations has also been reported.

Lissencephaly-pachygyria and subcortical band heterotopia are disorders of neuronal migration and represent a malformative spectrum resulting from mutations of either LIS1 or DCX genes. LIS1 mutations cause a more severe malformation in the posterior brain regions. Most children have severe developmental delay and infantile spasms, but milder phenotypes are on record, including posterior subcortical band heterotopia owing to mosaic mutations of LIS1. DCX mutations usually cause anteriorly predominant lissencephaly in males and subcortical band heterotopia in female patients.

Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia, accompanied by severe delay, hypotonia, and seizures, has been associated with muta-

tions of the RELN gene. X-linked lissencephaly with corpus callosum agenesis and ambiguous genitalia in males is associated with mutations of the ARX gene. Affected boys have severe delay and seizures with suppression-burst EEG. Carrier female patients can have isolated corpus callosum agenesis.

Among several syndromes featuring polymicrogyria, bilateral perisylvian polymicrogyria shows genetic heterogeneity. About 65% of patients have severe epilepsy. Recessive bilateral frontoparietal polymicrogyria has been associated with mutations of the GPR56 gene.

Introduzione

Le malformazioni della corteccia cerebrale di origine genetica sono generalmente caratterizzate da una collocazione e da una differenziazione anomala della sostanza grigia³. Lo sviluppo della corteccia cerebrale umana può essere suddiviso in tre stadi principali. Durante la prima fase le cellule staminali proliferano e si differenziano in neuroni o cellule gliali profonde nelle zone ventricolari e subventricolari lungo la cavità cerebrale. Nella seconda fase i neuroni, al termine della divisione mitotica, migrano lungo le fibre radiali della glia dalla zona periventricolare, e in particolare dalle eminenze ganglionali, verso la superficie piaie della piastra corticale che si sta formando. I neuroni che migrano successivamente si vanno a posizionare nella parte più esterna della piastra corticale con un pattern caratteristico per cui i neuroni che si trovano verso la parte esterna della piastra corticale sono quelli che si sono generati per ultimi. Durante la terza fase dello sviluppo corticale si ha l'organizzazione della corteccia cerebrale in sei strati associata con sinaptogenesi e apoptosi. Lo sviluppo della corteccia cerebrale è un processo dinamico. Le anomalie che principalmente caratterizzano la proliferazione sono generalmente associate ad una alterazione nella differenziazione delle cellule neuronali e della glia e sono anomalie di dimensione e morfologia⁴¹.

Studi genetici dello sviluppo della corteccia cerebrale e della migrazione neuronale hanno portato all'identificazione di diversi geni che, se mutati, causano anomalie della migrazione neuronale e dello sviluppo corticale in modelli animali e nell'uomo³.

L'epilessia è spesso presente in pazienti con malformazioni corticali ed è spesso grave, sebbene la frequenza e il tipo di crisi siano diverse a seconda del tipo di malformazione. È stato stimato che circa il 40% dei bambini con epilessia farmaco-resistente abbia una malformazione corticale.

Nelle successive sezioni verranno presentate le malformazioni corticali più frequenti che causano epilessia e quelle per cui sono stati identificati i geni malattia (Tab. I).

Tab. I. Malformazioni corticali più frequenti che causano epilessia e geni ad esse associati.

Malformazione corticale	Eredità	Locus	Gene	Prodotto genico/funzione
Eterotopia nodulare periventricolare bilaterale	X-linked AR	Xq28 20q13.13	<i>FLNA</i> <i>ARFGEF2</i>	FLNA: proteina che lega l'actina; funzioni vascolari e coagulatorie
Lissencefalia isolata	AD X-linked	17p13.3 Xq22.3	<i>LIS1</i> o <i>PAFAH1B1</i> <i>DCX</i>	<i>LIS1</i> : platelet-activation factor acetylhydrolas E, isoform 1B, α subunit; regola il livello del fattore che attiva le piastrine nel cervello; interazione con dineina, dinactina, NUDE, e proteine NUDEL. Doublecortin; interazione con <i>LIS1</i> ; effetti sui microtubuli e sul citoscheletro?
Doppia corteccia (Eterotopia a banda sottocorticale)	X-linked AD	Xq22.3 17p13.3	<i>DCX</i> <i>LIS1</i> o <i>PAFAH1B1</i>	
Sindrome Miller-Dieker	Disordine da microdelezione AR	17p13.3	<i>LIS1</i> , 14-3-3-epsilon e geni contigui <i>RELN</i>	Reelin; controllo sulle interazioni cellulari
Lissencefalia con ipoplasia cerebellare		7q22	<i>VLDLR</i>	Very low density lipoprotein receptor
Lissencefalia con genitali ambigui	X-linked	Xp22.13	<i>ARX</i>	Gene homeobox. Aristales-related; migrazione tangenziale e differenziamento degli interneuroni GABAergici nelle eminenze ganglionali e nella neocorteccia
Polimicrogria				
Perisilviana bilaterale (1)	X-linked AD	Xq28 11p13	? <i>PAX6</i>	Fattore di trascrizione
(1)	Mitocondriale		<i>MOTTL1</i>	
Polimicrogria				
Fronto-parietale bilaterale	AR		<i>GPR56</i>	G Protein coupled receptor; ruolo nel pattern regionale della corteccia cerebrale
Schizencefalia	AD?	10q26.1	<i>EMX2</i> (non confermato)	Gene homeobox; fattore di trascrizione regolatorio

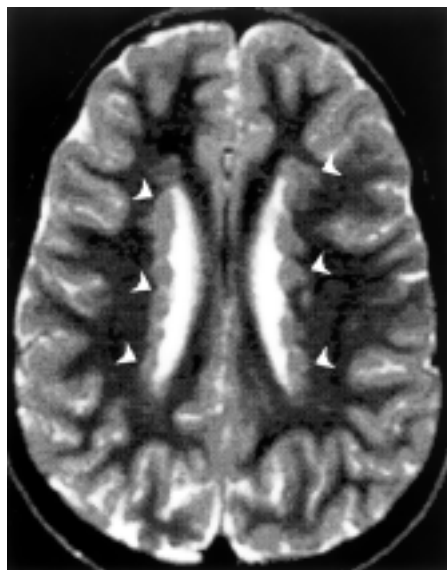


Fig. 1. Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: PNH bilaterale classica in una paziente con mutazione missenso di *FLNA*. I noduli eterotopici sono contigui, simmetrici ed estesi lungo le pareti dei ventricoli (frecce).

Malformazioni causate da alterazioni nella migrazione neuronale

Eterotopia nodulare periventricolare (PNH)

La PNH, spesso bilaterale, è caratterizzata da noduli eterotopici di sostanza grigia lungo le pareti laterali dei ventricoli, in seguito ad una totale assenza di migrazione di contingenti neuronali (Fig. 1). Esiste un ampio spettro di manifestazioni cliniche associate a PNH, sebbene la maggior parte dei pazienti giunga all'attenzione medica in seguito alla comparsa di crisi epilettiche^{23 36}.

La PNH X-linked dominante (MIM: #300049) è presente nelle femmine mentre è spesso associata a morte in epoca prenatale nei maschi emizigoti^{34 43}. Circa il 100% dei casi familiari con PNH X-linked bilaterale e il 20% dei pazienti sporadici hanno mutazioni nel gene *filamin 1 (FLNA)*^{12 34 43}. La bassa percentuale di mutazioni in *FLNA* nei casi sporadici e la sopravvivenza di alcuni maschi affetti può essere solo in parte spiegata dalla presenza di mosaicismo somatico²⁴.

Il gene *FLNA* è localizzato sul cromosoma (Xq28), è composto da 48 esoni e codifica per la proteina Filamin A (FLNA)⁹. FLNA è composto da tre domini funzionali principali: 1) una regione N-terminale che lega l'actina, composta da due domini di omologia alla calponina (CHD1 e CHD2); 2) un *rod domain* composto da 23 ripetizioni omologhe Ig-like con all'interno una sequenza

(Hinge 1) importante per conferire flessibilità alla proteina; 3) una sequenza (Hinge 2) seguita dal dominio C-terminale importante per il legame a un ampio numero di proteine e per la formazione di dimeri¹⁵. Il 24° dominio permette la dimerizzazione di due molecole di *FLNA* all'estremità C-terminale¹⁵. Inoltre *FLNA* promuove la formazione di fasci ortogonali di actina ed è importante per la coagulazione e lo sviluppo vascolare¹⁵. Il ruolo di *FLNA* nelle funzioni vascolari e della coagulazione può spiegare la letalità maschile in età prenatale osservata nella maggior parte dei casi familiari¹². Anche malformazioni cardiovascolari o intestinali possono essere responsabili della morte di questi pazienti²⁴.

Pazienti femmine con mutazioni in eterozigosi hanno un livello cognitivo da normale a borderline e un'epilessia con gravità variabile. Mutazioni missenso lievi o mutazioni in mosaico sono responsabili della sopravvivenza di alcuni maschi affetti^{12,24}, che a loro volta possono trasmettere il difetto genetico alle figlie²⁴. Inoltre sono stati descritti alcuni pazienti di entrambi i sessi con PNH unilaterale e mutazioni di *FLNA*^{24,43}.

È stata descritta associazione tra una rara forma di PNH e mutazioni nel gene *ADP-ribosylation factor guanine nucleotide exchange factor-2 (ARFGEF2)* in due famiglie in cui era presente consanguineità⁴⁴. Questo gene codifica per la proteina BIG2 che è implicata nel traffico vescicolare e di membrana dal reticolo del Golgi. I bambini affetti presentano inoltre microcefalia, grave ritardo dello sviluppo ed epilessia ad esordio precoce. Sono state inoltre descritte sindromi sporadiche con PNH bilaterale e ritardo mentale³⁶. In alcune di queste sindromi la malformazione può essere causata da piccoli riarrangiamenti cromosomici che coinvolgono *FLNA* e altri geni.

Circa il 90% dei pazienti con PNH ha epilessia che può insorgere a diverse età. Studi con elettrodi di profondità hanno dimostrato che l'attività epilettica può insorgere dalla corteccia periventricolare eterotopica, sempre coinvolgendo anche la corteccia cerebrale³¹.

Studi in fase iniziale con tomografia a emissione di positroni (PET) hanno mostrato che l'eterotopia ha la stessa attività metabolica della sostanza grigia normale³³. Studi di risonanza magnetica funzionale suggeriscono che nella PNH causata da mutazioni di *FLNA* i neuroni che non sono riusciti a migrare hanno però mantenuto quelle informazioni che permettono loro di assemblarsi in aggregati funzionalmente attivi¹⁸.

Lissencefalia classica, eterotopia a banda sottocorticale (spettro agiria-pachigiria) e lissencefalia con ipoplasia cerebellare

La lissencefalia classica (LIS) e l'eterotopia a banda sottocorticale (SBH) sono malformazioni corticali dovute ad anomalie nella migrazione dei neuroni durante lo sviluppo cerebrale precoce. La lissencefalia è caratterizzata da assenza (agiria) o diminuzione (pachigiria) delle circonvoluzioni corticali che

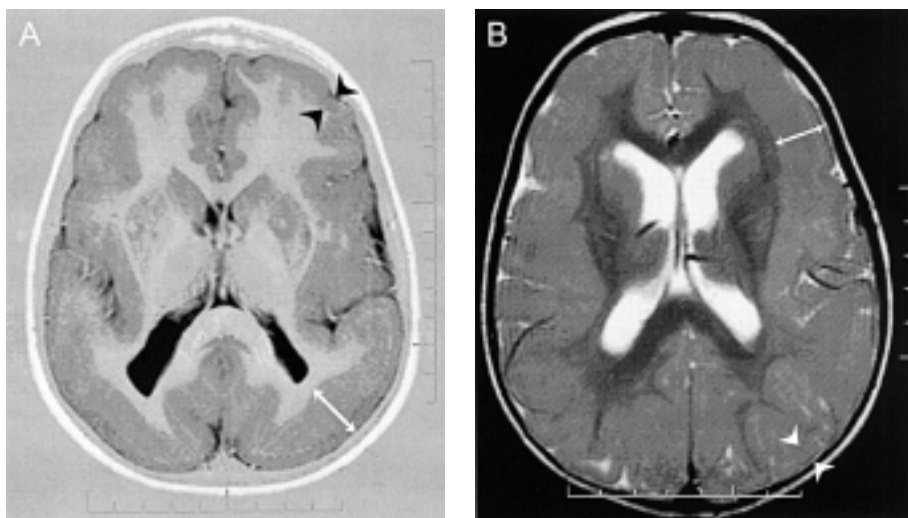


Fig. 2. Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: (A) lissencefalia classica in un maschio con mutazione di *LIS1*. Si osserva un gradiente malformativo $p > a$; lo spessore della corteccia è di circa 6 mm nei lobi frontali (freccie nere) e circa 3 cm nelle regioni posteriori (freccia bianca). (B) lissencefalia in una paziente con mutazione di *DCX*. Si osserva un gradiente malformativo $p > a$; lo spessore della corteccia è di circa 2 cm nei lobi frontali (freccia bianca singola) e circa 5 mm nelle regioni posteriori (freccie bianche).

danno luogo ad una superficie cerebrale liscia³. Nella lissencefalia i neuroni migrano solo parzialmente verso la loro destinazione finale e, di conseguenza, nella corteccia non si formano le circonvoluzioni e i solchi. Nella SBH, bande bilaterali di sostanza grigia rimangono localizzate nella sostanza bianca tra la corteccia e i ventricoli laterali². La corteccia sovrastante è normale o presenta solchi poco profondi.

Sono stati associati due geni alla lissencefalia classica e all'SBH. Il primo, *LIS1* (OMIM: #601545) localizzato sul cromosoma 17p13.3, è responsabile di una forma autosomica di lissencefalia⁴⁰, mentre il secondo, *doublecortin* (*DCX* o *XLIS*) (OMIM: #300067) è responsabile di una forma X-linked¹⁰.

Sebbene mutazioni di ognuno di questi geni possano causare sia LIS che SBH, la maggior parte dei casi di LIS classica sono dovuti a delezioni o mutazioni del gene *LIS1*, mentre la maggior parte dei casi di SBH sono dovuti a mutazioni di *DCX*¹⁰.

Mutazioni nel gene *LIS1* causano una forma di lissencefalia più grave nelle regioni posteriori del cervello (gradiente $p > a$) mentre mutazioni in *DCX* causano una forma di lissencefalia più grave nelle regioni anteriori del cervello (gradiente $a > p$)¹¹ (Fig. 2A e 2B). Il 40% dei pazienti con lissencefalia isolata

presenta una delezione che coinvolge l'intero gene³⁹, il 25% ha una mutazione intragenica⁸. I pazienti con mutazioni missenso hanno generalmente malformazioni più lievi con deficit neurologico e cognitivo meno gravi⁸. Mutazioni troncanti causano generalmente lissencefalia grave mentre mutazioni missenso causano pachigiria e, in rari casi, SBH. Mutazioni di *LIS1* in mosaico possono causare SBH nelle regioni posteriori del cervello. *LIS1* è inoltre il gene responsabile di tutti i casi di sindrome di Miller Dieker causata da delezioni che comprendono *LIS1* e alcuni geni contigui.

LIS1 codifica per una proteina che è simile alla subunità β delle proteine G eterotrimeriche e funziona come una subunità regolatoria del "platelet-activating factor acetylhydrolase" (PAF-AH). È stato dimostrato che in seguito a trattamento in vitro dei granulociti cerebellari con agonisti di PAF si ha una riduzione della migrazione di queste cellule⁵; ciò implica che *LIS1* svolge un ruolo essenziale nella migrazione neuronale. Inoltre, è stato dimostrato che la proteina *LIS1* co-localizza con i microtubuli promuovendo la loro stabilizzazione⁴² e che un ortologo di *LIS1* nell'*Aspergillus nidulans* media la traslocazione nucleare probabilmente attraverso l'interazione con i microtubuli³⁵. Questi dati fanno ipotizzare che *LIS1* agisca sulla migrazione attraverso i microtubuli.

Mutazioni in *DCX* causano un fenotipo di doppia corteccia caratterizzato da una seconda banda di neuroni corticali nella sostanza bianca, al disotto della corteccia normale (Fig. 3). Le donne con mutazioni di *DCX* hanno una banda

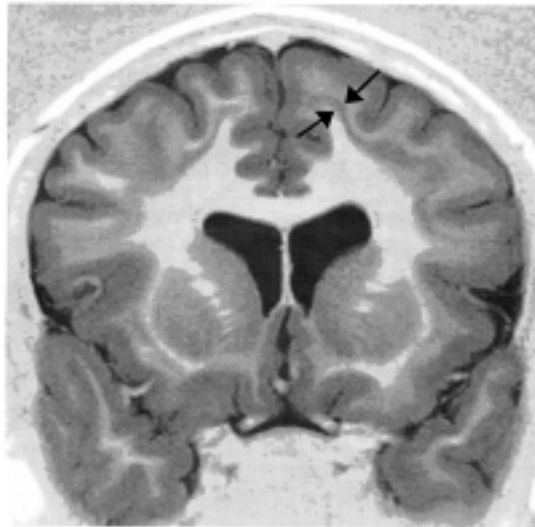


Fig. 3. Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione coronale: giovane donna con mutazione di *DCX*. Si osserva la banda eterotopica in sede sottocorticale all'interno della sostanza bianca.

eterotopica o pachigiria prevalentemente in sede anteriore. Tuttavia sono state osservate donne con mutazioni missenso di *DCX* e risonanza magnetica normale; ciò è dovuto ad una inattivazione sbilanciata del cromosoma X a favore dell'allele normale o a mutazioni che hanno conseguenze funzionali non gravi²⁵.

Mutazioni nelle regioni codificanti di *DCX* sono state trovate in tutte le famiglie descritte, incluse quelle in cui le femmine hanno SBH e i maschi LIS, e approssimativamente nell'80% dei casi sporadici di sesso femminile e nel 25% dei casi sporadici di sesso maschile con SBH⁴⁵. Mutazioni materne germinali o mutazioni sotto forma di mosaico somatico sono state ritrovate nel 10% dei casi di SBH o XLIS¹⁴. Maschi emizigoti con mutazioni missenso di *DCX* hanno lissencefalia classica anche se sono stati descritti rari casi di maschi con mutazioni missenso di *DCX* ed SBH predominante in sede anteriore²⁵.

La lissencefalia con agenesia del corpo calloso e cervelletto displastico rappresenta un sottotipo della lissencefalia con ipoplasia cerebellare (LCH). Nel 2000 Hong et al. hanno studiato due famiglie con consanguineità e una forma recessiva di lissencefalia associata a gravi anomalie del cervelletto e dell'ippocampo²⁷. Questa malformazione è stata associata a mutazioni nel gene *RELN* localizzato in 7q22²⁷ (OMIM: #257320). *RELN* codifica per una proteina di 388kD che agisce sui neuroni migratori corticali attraverso il legame con *VLDLR* (*very low density lipoprotein receptor*). Inoltre è stata dimostrata l'interazione genetica e biochimica tra *reeler* e LIS1 nel topo¹. Nel topo mutante *reeler* i neuroni non raggiungono la loro localizzazione definitiva causando una grave compromissione dell'organizzazione del cervelletto e della corteccia cerebrale.

Nel 2005 Boycott et al. hanno identificato una delezione in omozigosi di *VLDLR* in individui affetti da atassia non progressiva, ritardo mentale associato con ipoplasia cerebellare e lieve semplificazione delle circonvoluzioni corticali⁷. *VLDLR* fa parte del pattern di segnale di *reelin* e ciò può spiegare il fatto che il fenotipo dei pazienti con mutazioni in questo gene sia simile a quello della LCH.

La lissencefalia è associata a ritardo mentale grave, epilessia e disabilità motoria. Le crisi epilettiche sono presenti nel 90% dei bambini con insorgenza nei primi sei mesi in circa il 75%. In circa l'80% dei pazienti con epilessia sono presenti spasmi infantili. L'SBH ha generalmente caratteristiche cliniche meno gravi che includono epilessia e deficit cognitivo da lieve a moderato. Le funzioni cognitive sono correlate allo spessore della banda e al grado di pachigiria². L'epilessia è presente in quasi tutti i pazienti con SBH ed è intrattabile nel 65% dei casi²⁰.

Lissencefalia X-linked con agenesia del corpo calloso e genitali ambigui (XLAG)

La Lissencefalia X-linked con agenesia del corpo calloso e genitali ambigui (XLAG) è presente solo nei maschi. Lo spettro anatomico-clinico include lis-

sencefalia con gradiente $p > a$ e un aumento moderato dello spessore corticale (6-7 mm), assenza del corpo calloso, gangli della base poco delineati, microcefalia post-natale, epilessia ad insorgenza neonatale, disfunzioni ipotalamiche, diarrea cronica e genitali ambigui con micropene e criptorchidismo⁶. La neuropatologia dell'encefalo rivela una anomalia nella laminazione corticale con un pattern che suggerisce la distruzione della migrazione sia radiale che tangenziale, gangli della base displastici, bulbi olfattori e nervi ottici displastici, sostanza bianca anomala contenente numerosi neuroni eterotopici e agenesia completa del corpo calloso⁶.

Mutazioni nel gene *homeobox X-linked aristaless-related (ARX)* (OMIM: #300382) sono state identificate in individui con XLAG (Fig. 4)³⁰. Le femmine con mutazioni di *ARX* generalmente hanno livello cognitivo normale e possono avere sia risonanza magnetica normale che parziale o completa agenesia del corpo calloso. Tuttavia sono state osservate donne portatrici della mutazione con ritardo mentale ed epilessia⁶. Il gene *ARX*, sia nell'uomo che nel topo, è espresso in maniera elevata nel telencefalo dorsale e ventrale, nella zona ventricolare neocorticale e nella zona germinale dell'eminenza ganglionale³⁰. I topi che non hanno *ARX* mostrano un deficit nella migrazione tangenziale e una differenziazione anomala degli interneuroni che contengono l'acido gamma-amminobutirrico (interneuroni GABAergici) nelle eminenze ganglionali e nella neocorteccia. Queste caratteristiche possono spiegare la grave encefalopatia epilettica che si osserva spesso nei maschi affetti.

Le mutazioni del gene *ARX* più spesso osservate in pazienti con XLAG causano una interruzione prematura della proteina. Le mutazioni missenso sono meno frequenti e sono localizzate principalmente nel dominio *homeobox*²⁸. I pazienti con mutazioni missenso non conservative nell'*homeobox* hanno un fenotipo XLAG meno grave, mentre mutazioni conservative nell'*homeobox* causano sindrome di Proud. Mutazioni missenso non conservative vicino al dominio C-terminale causano XLAG grave con microcefalia e lieve ipoplasia cerebellare. Infine mutazioni di *ARX* sono associate anche a fenotipi meno gravi che non presentano malformazioni corticali quali gli spasmi infantili X-linked, la sindrome di Partington e il ritardo mentale non sindromico X-linked⁴⁶.

Malformazioni dovute ad anomalie della organizzazione corticale

Polimicrogiria

La polimicrogiria (PMG) è caratterizzata da un numero eccessivo di piccole e prominenti circonvoluzioni corticali separate da solchi poco profondi che danno alla superficie corticale un aspetto nodulare¹³. La risonanza magnetica evidenzia una anomala organizzazione della corteccia caratterizzata da un ispes-

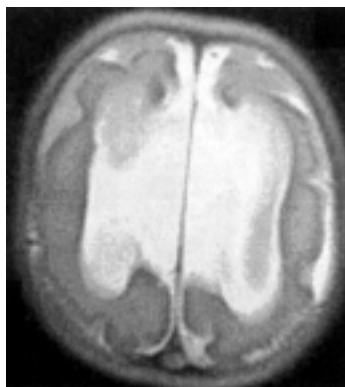


Fig. 4. Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: bambino di un anno con XLAG, agenesia del corpo calloso e genitali ambigui dovuti a mutazione di *ARX*.

simento dovuto alle circonvoluzioni estremamente piccole e numerose²². Esistono due tipologie istologiche di polimicrogria: nella polimicrogria a singolo strato lo strato molecolare è continuo e non segue il profilo delle circonvoluzioni mentre i neuroni sottostanti hanno una distribuzione radiale ma non una organizzazione laminare²³; nella polimicrogria a quattro strati è presente uno strato laminare intracorticale necrotico con conseguente alterazione della migrazione tardiva e distruzione dell'organizzazione corticale post-migratoria²⁶. I due tipi di polimicrogria non hanno necessariamente un'origine diversa e possono coesistere in aree corticali contigue²⁶.

La polimicrogria può essere focale o diffusa, unilaterale o bilaterale e può presentarsi come una lesione isolata, in associazione con altre malformazioni corticali⁴⁹, o come parte di uno spettro di sindromi di anomalie congenite multiple e ritardo mentale. Lo spettro di manifestazioni cliniche varia da individui normali con deficit selettivo delle funzioni cognitive a pazienti con grave encefalopatia epilettica²². Sono state descritte diverse sindromi di polimicrogria regionale: bilaterale perisilviana³² (Fig. 5A), bilaterale parasagittale paretoccipitale²¹ (Fig. 5B), bilaterale frontale¹⁹, bilaterale fronto-parietale³⁸ (Fig. 5D) e unilaterale perisilviana (Fig. 5C) o multilobare²². Queste differenti sindromi probabilmente rappresentano entità distinte che riflettono l'influenza dell'espressione regionale di geni dello sviluppo.

La *polimicrogria bilaterale perisilviana* coinvolge la sostanza grigia lungo la scissura silviana che è spesso verticalizzata e prolungata più posteriormente fino alla convessità (Fig. 5A). L'anomalia è generalmente simmetrica ma varia in estensione³². Sebbene la maggior parte dei pazienti siano sporadici, sono descritti casi familiari con diversi modelli di ereditarietà¹⁷. Inoltre è stato identificato un locus per la PMG bilaterale perisilviana in Xq28⁴⁸. Infine sono

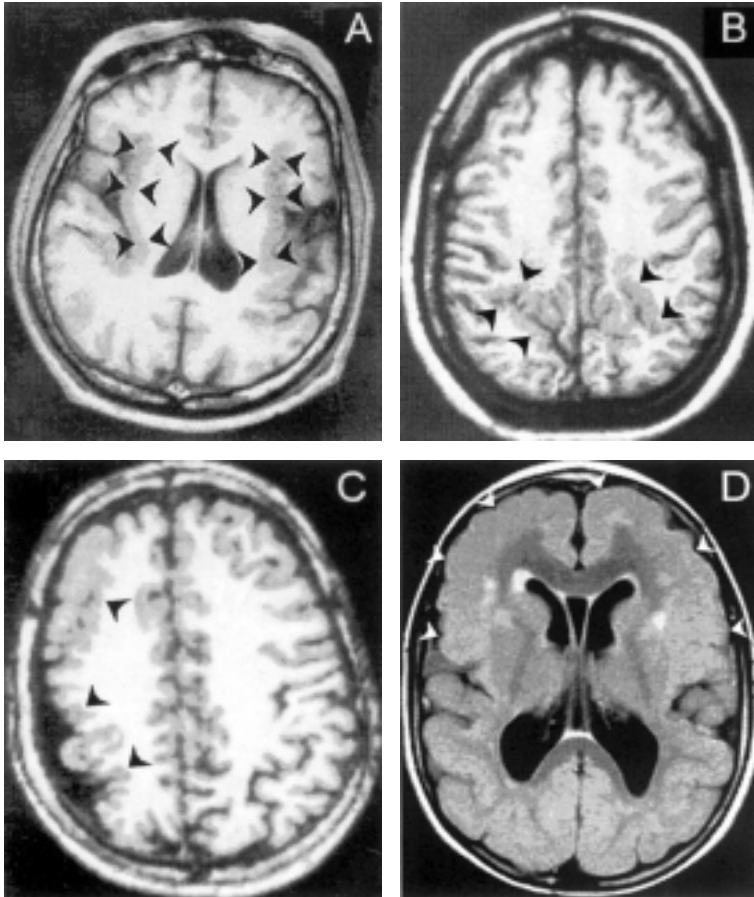


Fig. 5. (A) Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: *Polimicrogiria bilaterale perisilviana* – le scissure silviane sono aperte e la corteccia perisilviana è ispessita e irregolare (freccie nere). (B) Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: *Polimicrogiria bilaterale parasagittale* – ispessimento irregolare e *infolding* della corteccia nelle giunzioni mesiali pareto-occipitali (freccie nere). (C) Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: *Polimicrogiria unilaterale* – l'emisfero destro è più piccolo del sinistro e lo spazio subaracnoideo sopra l'emisfero destro è allargato (freccie nere). (D) Risonanza magnetica dell'encefalo, sezione assiale: *Polimicrogiria bilaterale fronto-parietale* (freccie nere) – in una paziente con mutazione di *GPR56*.

stati descritti alcuni pazienti con PMG bilaterale perisilviana, bilaterale o unilaterale, che presentavano delezioni in 22q11.2⁴ ed alcuni pazienti nati da parti gemellari monocorionici e biamniotici⁴⁷.

È stato descritto un paziente maschio con PMG bilaterale perisilviana e encefalopatia neonatale grave che aveva una sorella con le caratteristiche classi-

che della sindrome di Rett. Entrambi i pazienti avevano una mutazione nel gene *MECP2* localizzato in Xq28. Questi dati suggeriscono che l'analisi di *MECP2* deve essere effettuata in maschi con grave encefalopatia neonatale e in individui di entrambi i sessi con PMG bilaterale.

PAX6 è un gene altamente conservato localizzato in 11p13 che codifica per un fattore di trascrizione. È stato riportato un caso di madre e figlio con PMG unilaterale e mutazioni in *PAX6* suggerendo che questo gene potrebbe essere un buon candidato per la PMG. Inoltre è stata descritta una paziente con PMG, tratti dismorfici e aumento dell'acido lattico. Il fratello maggiore presentava una encefalopatia mitocondriale tipica. Entrambi i pazienti avevano una mutazione nel gene *MTTL1* (*mitochondrial transfer RNA for the leucine 1*)²⁹.

I pazienti con PMG bilaterale perisilviana hanno diplegia facio-faringo-glosso-masticatoria e disartria, ritardo mentale ed epilessia. I pazienti con danno più esteso presentano anche tetraparesi spastica²². Le crisi epilettiche insorgono generalmente tra i 4 e i 12 anni e sono difficilmente controllate nel 65% dei casi.

La *polimicrogiria bilaterale frontale* è stata descritta in bambini con ritardo dello sviluppo, tetraparesi spastica ed epilessia¹⁹. Sebbene la maggior parte dei casi riportati siano sporadici, la ricorrenza di questa malformazione in famiglie con consanguineità suggerisce l'ipotesi di una ereditarietà autosomica recessiva.

La *polimicrogiria bilaterale fronto-parietale* si estende dalla regione frontale ai lobi parietali (Fig. 5D) ed è stata trovata in diverse famiglie che presentavano un modello di ereditarietà autosomica recessivo. Questa forma è stata associata alla regione cromosomica 16q12.2-21³⁷ ed in particolare a mutazioni nel gene *G protein-coupled receptor 56* (*GPR56*)³⁸ che codifica per una proteina appartenente alla famiglia dei recettori "*G-protein-coupled receptors*". Il pattern di espressione di *Gpr56* nel topo e la distribuzione della malformazione corticale in pazienti con mutazioni in omozigosi suggeriscono che *Gpr56* regoli la formazione corticale dei lobi frontali³⁸. L'epilessia, osservata nella maggior parte dei pazienti, è caratterizzata da crisi parziali e assenze atipiche ed ha una gravità variabile.

Poiché diverse anomalie cromosomiche sono state associate con polimicrogiria focale, diffusa, unilaterale e bilaterale, dovrebbe essere sempre effettuato un cariotipo ad alta risoluzione o una analisi array-CGH in pazienti con PMG al fine di identificare eventuali riarrangiamenti cromosomici.

Schizencefalia

La schizencefalia è una malformazione dello sviluppo corticale presente fin dalla nascita. È caratterizzata da fessurazione del manto corticale che si estende dalla superficie piaie fino alla superficie ventricolare e può essere isolata (schizencefalia a labbra chiuse) o associata ad importante perdita di parenchima ce-

rebrale (schizencefalia a labbra aperte). La corteccia circostante l'area schizencefalica è polimicrogirica e per tale ragione la schizencefalia è considerata da alcuni un disturbo dell'organizzazione corticale³. La schizencefalia può però anche essere dovuta ad una mancanza di proliferazione dei neuroni e della glia in epoca molto precoce²³. Sono stati descritti alcuni casi familiari di schizencefalia sebbene questa malformazione sia generalmente sporadica. Alcuni casi sporadici e due fratelli (maschio e femmina) presentavano mutazioni germinali nel gene *homeobox EMX2*¹⁶. Tuttavia non vi è stata conferma di questa associazione e non sono ancora chiari il ruolo di questo gene nella schizencefalia e il modello di trasmissione di questa malformazione. Le caratteristiche cliniche dei pazienti con schizencefalia includono epilessia focale nella maggior parte dei casi (80%)¹⁶.

Conclusioni

Studi di *linkage* e di clonaggio posizionale sono stati molto importanti per definire le basi genetiche delle malformazioni della corteccia cerebrale. Spesso è presente eterogeneità genetica ed uno stesso pattern malformativo può essere dovuto a mutazioni in geni diversi che hanno però un ruolo funzionale all'interno dello stesso *pathway* molecolare. La maggior parte dei geni identificati codificano per proteine espresse nel cervello la cui funzione nella proliferazione, nella apoptosi e nella migrazione dei neuroni deve essere ancora ben definita. Gli studi sui modelli animali permetteranno di ottenere nuove informazioni sui meccanismi cellulari e molecolari alla base dello sviluppo corticale. L'epilessia farmaco-resistente è frequente in alcune malformazioni corticali anche se saranno necessari ulteriori studi per chiarire i meccanismi che determinano l'epilettogenesi.

Riassunto

Le malformazioni della corteccia cerebrale rappresentano una delle principali cause di ritardo dello sviluppo cognitivo, epilessia e svantaggio riproduttivo. Difetti genetici specifici sono spesso associati a malformazioni corticali.

L'eterotopia nodulare periventricolare (PNH) X-linked è presente prevalentemente in pazienti di sesso femminile ed è spesso associata ad epilessia. Mutazioni nel gene *FLNA* sono presenti in tutti i casi familiari e nel 25% di quelli sporadici. Una rara forma recessiva di PNH è associata con mutazioni nel gene *ARFGEF2*.

La lissencefalia-pachigiria e l'eterotopia a banda sottocorticale (SBH) fanno parte di uno spettro malformativo associato a mutazioni nei geni *LIS1* o *DCX*. Mutazioni di *LIS1* determinano un pattern malformativo più grave nelle

regioni posteriori dell'encefalo, associato a grave deficit cognitivo ed epilessia; fenotipi meno gravi sono segnalati, inclusa l'SBH posteriore dovuta a mutazioni di *LIS1* in mosaicismo somatico. Mutazioni di *DCX* causano generalmente lissencefalia predominante nella parte anteriore dell'encefalo nei maschi e SBH nelle femmine. Una forma di lissencefalia autosomica recessiva con ipoplasia cerebellare accompagnata da grave ritardo, ipotonia ed epilessia è associata a mutazioni di *RELN*. Lissencefalia con agenesia del corpo calloso e genitali ambigui in soggetti di sesso maschile, è associata a mutazioni nel gene *ARX*.

Vi sono varie sindromi caratterizzate da polimicrogiria. La forma bilaterale perisilviana è geneticamente eterogenea. Circa il 65% dei pazienti con la polimicrogiria bilaterale perisilviana hanno epilessia grave. Una forma fronto-parietale bilaterale, recessiva, è stata associata a mutazioni nel gene *GPR56*.

Bibliografia

- ¹ Assadi AH, Zhang G, Beffert U, McNeil RS, Renfro AL, Niu S, et al. *Interaction of reelin signaling and Lis1 in brain development*. Nat Genet 2003;35:270-6.
- ² Barkovich AJ, Guerrini R, Battaglia G. *Band Heterotopia: correlation of outcome with magnetic resonance imaging parameters*. Ann Neurol 1994;36:609-17.
- ³ Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Jackson GD, Guerrini R, Dobyns WB. *A developmental and genetic classification for malformations of cortical development*. Neurology 2005;65:1873-87.
- ⁴ Bingham PM, Lynch D, McDonald-McGinn D, Zackai E. *Polymicrogyria in chromosome 22 deletion syndrome*. Neurology 1998;51:1500-2.
- ⁵ Bix GJ, Clark GD. *Platelet-activating factor receptor stimulation disrupts neuronal migration in vitro*. J Neurosci 1998;18:307-18.
- ⁶ Bonneau D, Toutain A, Laquerriere A, Marret S, Saugier-Verber P, Barthez MA, et al. *X-linked lissencephaly with absent corpus callosum and ambiguous genitalia (XLAG): clinical, magnetic resonance imaging, and neuropathological findings*. Ann Neurol 2002;51:340-9.
- ⁷ Boycott KM, Flavell S, Bureau A. *Homozygous deletion of the very low density lipoprotein receptor gene causes autosomal recessive cerebellar hypoplasia with cerebral gyral simplification*. Am J Hum Genet 2005;77:477-83.
- ⁸ Cardoso C, Leventer RJ, Matsumoto N, Kuc JA, Ramocki MB, Mewborn SK, et al. *The location and type of mutation predict malformation severity in isolated lissencephaly caused by abnormalities within the LIS1 gene*. Hum Mol Genet 2000;9:3019-28.
- ⁹ Chen M, Stracher A. *In situ phosphorylation of platelet actin-binding protein by cAMP-dependent protein kinase stabilizes it against proteolysis by calpain*. J Biol Chem 1989;264:14282-9.
- ¹⁰ des Portes V, Pinard JM, Billuart P. *A novel CNS gene required for neuronal migration and involved in X-linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome*. Cell 1998;92:51-61.
- ¹¹ Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, Matsumoto N, Pilz DT, Ledbetter DH, et al. *Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly*. Neurology 1999;53:270-7.
- ¹² Fox JW, Lamperti ED, Eksioğlu YZ. *Mutations in Filamin 1 prevent migration of cerebral cortical neurons in human periventricular heterotopia*. Neuron 1998;21:1315-25.
- ¹³ Friede R. *Developmental neuropathology*. New York: Springer-Verlag 1989.
- ¹⁴ Gleeson JG, Luo RF, Grant PE, Guerrini R, Huttenlocher PR, Berg MJ, et al. *Genetic and neuro-radiological heterogeneity of double cortex syndrome*. Ann Neurology 2000;47:265-9.
- ¹⁵ Gorlin JB, Yamin R, Egan S. *Human endothelial actin-binding protein (ABP-280, nonmuscle filamin): a molecular leaf spring*. J Cell Biol 1990;111:1089-105.

- ¹⁶ Granata T, Farina L, Faiella A, Cardini R, D'Incerti L, Boncinelli E, et al. *Familial schizencephaly associated with EMX2 mutation*. *Neurology* 1997;48:1403-6.
- ¹⁷ Guerreiro MM, Andermann E, Guerrini R. *Familial perisylvian polymicrogyria: a new familial syndrome of cortical maldevelopment*. *Ann Neurol* 2000;48:39-48.
- ¹⁸ Guerrini R. *Do heterotopic neurons think?* *Neurology* 2004;62:1.
- ¹⁹ Guerrini R, Barkovich AJ, Sztriha L, Dobyns WB. *Bilateral frontal polymicrogyria: a newly recognized brain malformation syndrome*. *Neurology* 2000;54:909-13.
- ²⁰ Guerrini R, Carozzo R. *Epilepsy and genetic malformations of the cerebral cortex*. *Am J Med Genet* 2001;106:160-73.
- ²¹ Guerrini R, Dubeau F, Dulac O. *Bilateral parasagittal parietooccipital polymicrogyria and epilepsy*. *Ann Neurol* 1997;41:65-73.
- ²² Guerrini R, Dravet C, Raybaud C, Roger J, Bureau M, Battaglia A, et al. *Neurological findings and seizure outcome in children with bilateral opercular macrogyric-like changes detected by MRI*. *Dev Med Child Neurol* 1992;34:694-705.
- ²³ Guerrini R, Filippi T. *Neuronal migration disorders, genetics, and epileptogenesis*. *J Child Neurol* 2005;20:287-99.
- ²⁴ Guerrini R, Mei D, Sisodiya S. *Germline and mosaic mutations of FLN1 in men with periventricular heterotopia*. *Neurology* 2004;63:51-6.
- ²⁵ Guerrini R, Moro F, Andermann E, Hughes E, D'Agostino D, Carozzo R, et al. *Nonsyndromic mental retardation and cryptogenic epilepsy in women with doublecortin gene mutations*. *Ann Neurol* 2003;54:30-7.
- ²⁶ Harding B, Copp A. *Malformations of the nervous system*. In: Graham J, Lantos PL, ed. *Greenfields neuropathology*. London-Melbourne-Auckland: Edward Arnold 1997, pp. 521-38.
- ²⁷ Hong SE, Shugart YY, Huang DT. *Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia (LCH) is associated with human reelin gene mutations*. *Nat Genet* 2000;26:93-6.
- ²⁸ Kato M, Das S, Petras K, Kitamura K, Morohashi K, Abuelo DN, et al. *Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation*. *Hum Mutat* 2004;23:147-59.
- ²⁹ Keng WT, Pilz DT, Minns B, Fitzpatrick DR. *A3243G mitochondrial mutation associated with polymicrogyria*. *Dev Med Child Neurol* 2003;45:704-8.
- ³⁰ Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N. *Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans*. *Nat Genet* 2002;32:359-69.
- ³¹ Kothare SV, VanLandingham K, Armon C, Luther JS, Friedman A, Radtke RA. *Seizure onset from periventricular nodular heterotopias: depth-electrode study*. *Neurology* 1998;51:1723-7.
- ³² Kuzniecky R, Andermann F, Guerrini R, Study CMC. *Congenital bilateral perisylvian syndrome: study of 31 patients*. *Lancet* 1993;341:608-12.
- ³³ Morioka T, Nishio S, Sasaki M. *Functional imaging in periventricular nodular heterotopia with the use of FDG-PET and HMPAO-SPECT*. *Neurosurg Rev* 1999;22:41-4.
- ³⁴ Moro F, Carozzo R, Veggiotti P, Tortorella G, Toniolo D, Volzone A, et al. *Familial periventricular heterotopia: missense and distal truncating mutations of the FLN1 gene*. *Neurology* 2002;58:916-21.
- ³⁵ Morris NR, Efimov VP, Xiang X. *Nuclear migration, nucleokinesis and lissencephaly*. *Trends Cell Biol* 1998;8:467-70.
- ³⁶ Parrini E, Ramazzotti A, Dobyns WB. *Periventricular heterotopia: phenotypic heterogeneity and correlation with Filamin A mutations*. *Brain* 2006;129:1892-906.
- ³⁷ Piao X, Basel-Vanagaite L, Straussberg R, Grant PE, Pugh EW, Doheny K, et al. *An autosomal recessive form of bilateral frontoparietal polymicrogyria maps to chromosome 16q12.2-21*. *Am J Hum Genet* 2002;70:1028-33.
- ³⁸ Piao X, Hill RS, Bodell A. *G protein-coupled receptor-dependent development of human frontal cortex*. *Science* 2004;303:2033-6.
- ³⁹ Pilz DT, Kuc J, Matsumoto N, Bodurtha J, Bernadi B, Tassinari CA, et al. *Subcortical band heteroto-*

- pia in rare affected males can be caused by missense mutations in DCX (XLIS) or LIS1.* Hum Mol Genet 1999;8:1757-60.
- ⁴⁰ Reiner O, Carrozzo R, Shen Y. *Isolation of a Miller-Dieker lissencephaly gene containing G protein b-subunit-like repeats.* Nature 1993;364:717-21.
- ⁴¹ Robain O. *Introduction to the pathology of cerebral cortical dysplasia.* In: Guerrini R, Andermann F, Canapicchi R, Roger J, Zifkin B, Pfanner P, eds. *Dysplasias of cerebral cortex and epilepsy.* Philadelphia-New York: Lippincott-Raven 1996, pp. 1-9.
- ⁴² Sapir T, Elbaum M, Reiner O. *Reduction of microtubule catastrophe events by LIS1, platelet-activating factor acetylhydrolase subunit.* Embo J 1997;16:6977-84.
- ⁴³ Sheen VL, Dixon PH, Fox JW, Hong SE, Kinton L, Sisodiya SM, et al. *Mutations in the X-linked filamin 1 gene cause periventricular nodular heterotopia in males as well as in females.* Hum Mol Genet 2001;10:1775-83.
- ⁴⁴ Sheen VL, Ganesh VS, Topcu M. *Mutations in ARFGEF2 implicate vesicle trafficking in neural progenitor proliferation and migration in the human cerebral cortex.* Nat Genet 2004;36:69-76.
- ⁴⁵ Sicca F, Silengo M, Parrini E, Ferrero GB, Guerrini R. *Subcortical band heterotopia with simplified gyral pattern and syndactyly.* Am J Med Genet 2003;119:207-10.
- ⁴⁶ Stromme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, Lower KM, Lewis SM, Bruyere H, et al. *Mutations in the human ortholog of Aristaless cause X-linked mental retardation and epilepsy.* Nat Genet 2002;30:441-5.
- ⁴⁷ Van Bogaert P, Donner C, David P. *Congenital bilateral perisylvian syndrome in a monozygotic twin with intra-uterine death of the co-twin.* Dev Med Child Neurol 1996;38:166-70.
- ⁴⁸ Villard L, Nguyen K, Cardoso C, Martin CL, Weiss AM, Sifry-Platt M, et al. *A locus for bilateral perisylvian polymicrogyria maps to Xq28.* Am J Hum Genet 2002;70:1003-8.
- ⁴⁹ Wieck G, Leventer RJ, Squier WM. *Periventricular nodular heterotopia with overlying polymicrogyria.* Brain 2005;128:2811-21.