



Universidad
Zaragoza



ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA: DEL FENOTIPO AL GENOTIPO

Ana Laura Martínez de Morentin Navarcoren

Máster Universitario en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del
Crecimiento y Desarrollo

Curso académico 2017-2018

Departamento de Pediatría, Radiología y Medicina Física.

Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

Tutores:

Dra. Lorena Monge Galindo

Dr. Feliciano Ramos Fuentes

RESUMEN

Introducción: Las encefalopatías epilépticas (EE) representan un grupo de trastornos epilépticos devastadores con inicio habitualmente en la infancia y caracterizadas por epilepsia farmacorresistente, anomalías electroencefalográficas significativas y deterioro cognitivo grave.

Objetivo: Analizar las características clínicas y el seguimiento en pacientes afectados de EE a los que se les ha realizado un estudio genético con un panel de genes relacionados con epilepsia o un exoma clínico dirigido a epilepsia, analizando las variantes patogénicas encontradas.

Material y métodos: Se realiza un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y analítico, en el que se analizan variables clínicas y analíticas de 34 pacientes (18 varones y 16 mujeres) con diagnóstico de EE y a los que se realizó estudio genético (panel de epilepsias o exoma clínico).

Resultados: La media de edad de presentación de primera crisis fue de $14,2 \pm 16,9$ meses. Los pacientes con diagnóstico genético definitivo iniciaron las crisis a una edad menor ($10,30 \pm 10,17$ meses). El 67,6% de los pacientes presentaban crisis generalizadas y precisaron una media de $5,8 \pm 3,7$ fármacos antiepilepticos (FAES). Se solicitó el exoma clínico (trío) en 27 casos (79,4%), que identificó variantes patogénicas en 7 casos (25,9%). Cuando se realizó el estudio del panel de epilepsia (7 casos) se llegó a un diagnóstico etiológico en 2 casos (11,1%).

Conclusiones: La presencia de malformaciones congénitas, fenotipo peculiar y menor edad de inicio de las crisis parece que puede estar relacionada con un aumento de la probabilidad de presentar un resultado en el test genético. El rendimiento diagnóstico del panel de epilepsia en nuestra muestra de niños con EE ha sido del 11,1%, y el del exoma clínico un 25,9 %. El estudio genético mediante exoma-trío se está posicionando como prueba de primera línea en el estudio de estos pacientes.

Palabras clave: Encefalopatía epiléptica, panel epilepsia, exoma clínico, exoma-trío, fármacos antiepilepticos.

ABSTRACT

Background: Epileptic encephalopathies (EE) represent a group of devastating epileptic disorders that usually begin in childhood and are characterized by drug-resistant epilepsy, electroencephalographic abnormalities, and severe cognitive impairment.

Objetive: To analyze the clinical characteristics and the follow-up in patients affected by EE who have undergone a genetic study with a panel of genes related to epilepsy or a clinical exome directed to epilepsy, analyzing the pathogenic variants founded.

Material and methods: A retrospective observational, descriptive and analytical study was carried out, in which clinical and analytical variables of 34 patients (18 men and 16 women) with a diagnosis of EE were analyzed and who underwent a genetic study (panel of epilepsies or clinical exome).

Results: The mean age of presentation of the first crisis was 14.2 ± 16.9 months. The patients with a definitive genetic diagnosis started the seizures at a younger age (10.30 ± 10.17 months). 67.6% of the patients presented generalized seizures and required an average of 5.8 ± 3.7 antiepileptic drugs (FAES). The clinical exome (trio) was requested in 27 cases (79.4%), which identified pathogenic variants in 7 cases (25.9%). When the study of the epilepsy panel was carried out (7 cases), an etiological diagnosis was reached in 2 cases (11.1%).

Conclusions: The presence of congenital malformations, peculiar phenotype and lower age of onset of seizures seems to be related to an increase in the probability of presenting a result in the genetic test. The diagnostic performance of the epilepsy panel in our sample of children with EE was 11.1%, and that of the clinical exome was 25.9%. The exome-trio genetic study is positioning itself as a first line test in the study of these patients.

Keywords: Epileptic encephalopathy, epilepsy panel, clinical exome, exome trio, antiepileptic drugs.

ABREVIATURAS EMPLEADAS

Índice abreviaturas	
aCGH	CGH-array
AD	Autosómico dominante
AR	Autosómico recesivo
BD	Base de datos
CNV	Variante en el número de copias
CIR	Crecimiento intrauterino retrasado
DE	Desviación estándar
DG	Diabetes gestacional
DI	Discapacidad intelectual
EE	Encefalopatía epiléptica
EEG	Electroencefalograma
ES	Secuenciación del exoma
FAES	Fármacos antiepilepticos
FIV	Fecundación <i>in vitro</i>
ERGE	Reflujo gastroesofágico
HTS	Secuenciación alto rendimiento
ILAE	Liga Internacional Contra la Epilepsia
PRN	Peso recién nacido
RM	Resonancia magnética
SNC	Sistema nervioso central
SEG	Semanas edad gestacional
TEA	Trastorno del espectro autista
VOUS/VUS	Variante de significado incierto

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Definición y epidemiología	1
1.2 Historia de la encefalopatía epiléptica	1
1.3 Aproximación diagnóstica	3
1.4 Papel de la genética en el diagnóstico	5
1.5 Tratamiento y pronóstico	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo principal	15
2.2 Objetivos secundarios	16
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. MATERIAL Y MÉTODOS	15
4.1 Diseño del estudio	15
4.2 Método	16
4.3 Análisis estadístico	19
4.4 Aspectos éticos	20
5. RESULTADOS	21
5.1 Estudio descriptivo	21
5.2 Estudio analítico	27
6. DISCUSIÓN	36
6.1 Características generales de la muestra y comparativa entre grupo de panel/exoma alterado y grupo panel/exoma normal	36
6.2 Variantes patogénicas encontradas en los casos clínicos	39
6.3 Rendimiento diagnóstico del panel y del exoma	50
7. LIMITACIONES	52
8. CONCLUSIONES	52
9. FUTURAS INVESTIGACIONES	53
9. BIBLIOGRAFÍA	54

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

El concepto actual de encefalopatía epiléptica (EE) propuesto por la Comisión de Clasificación y Terminología de la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) hace referencia a un conjunto heterogéneo de síndromes epilépticos en los que la actividad epiléptica contribuye por sí misma al desarrollo de un deterioro progresivo de las funciones corticales cerebrales^{1,2}.

La EE en la infancia es un término descriptivo para un grupo de trastornos epilépticos graves caracterizados por un inicio temprano de las crisis convulsivas, resistentes a tratamientos, con estancamiento o regresión del desarrollo cognitivo³.

La incidencia estimada de EE es de 4,3 por cada 10.000 nacidos vivos por año⁴. Supone una importante carga de cuidados para las familias, para los servicios de salud, un riesgo significativo de comorbilidad y acortamiento de la esperanza de vida^{5,6}.

1.2 HISTORIA DE LA ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA

Las descripciones clínicas durante el siglo pasado de entidades que ahora consideramos EE contribuyeron a la creación del concepto. Esto ocurrió porque la idea de que no solo las convulsiones sino también estados epilépticos aparentemente subclínicos podrían interferir con el estado cognitivo. Además del síndrome de West, este concepto se ha utilizado ampliamente en el síndrome de Lennox-Gastaut. Henri Gastaut consideró el retraso mental (discapacidad intelectual) como un síntoma obligatorio del síndrome y una consecuencia de la actividad epiléptica electroencefalográfica interictal. El concepto de que un déficit neuropsicológico podría ser determinado por la actividad paroxística electroencefalográfica interictal, continua o subcontinua, también estuvo presente en la primera descripción del síndrome por Landau y Kleffner (1957). El concepto fue desarrollado por Dulac (2001) en la década de 1990, y finalmente se incluyó en la propuesta de la clasificación de la ILAE en 2001⁷, donde el término de EE se usó para condiciones en las que se cree que "las anomalías epileptiformes contribuyen a la alteración progresiva de la función cerebral". Posteriormente, en 2006, Engel definió EE como condiciones donde "existe un proceso de neurodesarrollo o neurodegeneración que es dependiente de la epilepsia, involucrado en la evolución del síndrome (en contraposición a un proceso metabólico,

degenerativo o encefalítico subyacente)", excluyendo así estas etiologías progresivas específicas del espectro causal de EE. Engel también describe que "es importante distinguir entre los déficits que son debidos a la etiología de la epilepsia, los que se deben a la farmacoterapia utilizada y los que se deben a la propia epilepsia (EE). Desafortunadamente, esto puede ser difícil y muchos EE son teóricos".

La ILAE en 2010³ señaló que "la EE incorpora la noción de que la actividad epiléptica misma puede contribuir a alteraciones cognitivas y conductuales, más allá de lo que se podría esperar de la patología subyacente por si sola (por ejemplo, malformación cortical), y que pueden empeorar con el tiempo. Aunque ciertos síndromes a menudo se conocen como EE, los efectos encefalopáticos de las convulsiones y la epilepsia pueden ocurrir en asociación con cualquier forma de epilepsia". La ILAE en 2001¹ diferencia entre las EE y las encefalopatías con epilepsia. En Sciacca en abril de 2012, Capovilla propuso el nuevo concepto de encefalopatías epileptogénicas, que son afecciones progresivas con diversas etiologías, que pueden producir deterioro cognitivo (*per se*) y epilepsia. Pueden tener diferentes etiologías, como tumores cerebrales, enfermedades neurodegenerativas o metabólicas y enfermedades inflamatorias o autoinmunes. En las encefalopatías "epileptógenas", el deterioro es independiente de la epilepsia, incluso si la epilepsia deteriora el cuadro clínico; pueden producir una EE, pero no tienen EE pura. Esta distinción tiene un valor fundamental porque, si se tiene el concepto de EE, en estas condiciones el tratamiento debe ser agresivo, pero si el deterioro se produce debido a la etiología específica, existe el peligro de un sobretratamiento injustificado. Es bien sabido que los tratamientos, en particular la politerapia agresiva, pueden empeorar el perfil neuropsicológico, y este empeoramiento se puede considerar consecuencia de EE, lo que provoca un excesivo tratamiento farmacológico.

En la última clasificación de la ILAE de 2017 se propone un concepto de EE aplicable a las epilepsias en todas las edades, no sólo para epilepsias graves con inicio en la infancia y niñez. Afirman que muchos síndromes de epilepsia asociados con encefalopatía tienen etiología genética. Muchos de estos trastornos genéticos tienen consecuencias en el neurodesarrollo, que surgen directamente del efecto de la variante patogénica genética, además del efecto de la actividad epiléptica. En conclusión, se sugiere que el término "encefalopatía epiléptica y del desarrollo" sea utilizado cuando corresponda y se pueda aplicar a personas de cualquier edad. Esto permite su uso de una o de ambas descripciones: encefalopatía del desarrollo cuando sólo haya deterioro del desarrollo sin actividad epiléptica, encefalopatía epiléptica cuando no haya retraso preexistente del neurodesarrollo y la variante patogénica

genética no sea causante de este y por último encefalopatía epiléptica y alteración del desarrollo. Este nuevo concepto permitirá una clasificación más precisa de estos pacientes epilépticos. En muchos casos, donde una variante patogénica genómica sea la causante, se podrá utilizar el nombre de la condición subyacente, por ejemplo, "Encefalopatía *STXBP1*" o "Encefalopatía *KCNQ2*"⁸.

1.3 APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA

El diagnóstico en la EE supone un gran desafío, ya que existen numerosas etiologías con importante superposición fenotípica; se incluyen causas no genéticas, así como más de 200 trastornos convulsivos monogénicos, errores congénitos del metabolismo y síndromes con discapacidad intelectual⁹.

Un enfoque de diagnóstico típico para la EE abarca dos pasos: evaluaciones de primer y segundo nivel.

Evaluación de primer nivel incluye revisión neurológica y clínica, detección de trastornos metabólicos, neuroimagen, neurofisiología, microarrays cromosómicos y pruebas genéticas específicas para condiciones clínicamente sospechosas^{10,11}. Esto permite el diagnóstico de EE secundaria a malformaciones corticales, hemorragia o accidentes cerebrovasculares, hipoxia-isquemia perinatal, lesiones focales susceptibles de cirugía, algunas enfermedades metabólicas y mitocondriales, síndromes clínicamente reconocibles como esclerosis tuberosa, número de copias cromosómicas patógenas variantes y síndromes electro-clínicos asociados con un gen particular como el síndrome de Dravet relacionado con el gen *SCN1A* (MIM 607208).

Sin embargo, entre el 40%-50% de los pacientes afectados de EE permanecen sin diagnosticar tras la evaluación de primer nivel^{12,13}.

La **evaluación de segundo nivel** implica evaluaciones clínicas seriadas, neuroimágenes adicionales, estudios metabólicos y secuenciación de genes^{10,11}. Este enfoque a menudo representa una odisea diagnóstica para pacientes, sus familias y los médicos: es invasivo, costoso, consume mucho tiempo y tiene un bajo rendimiento diagnóstico (<10%)¹¹.

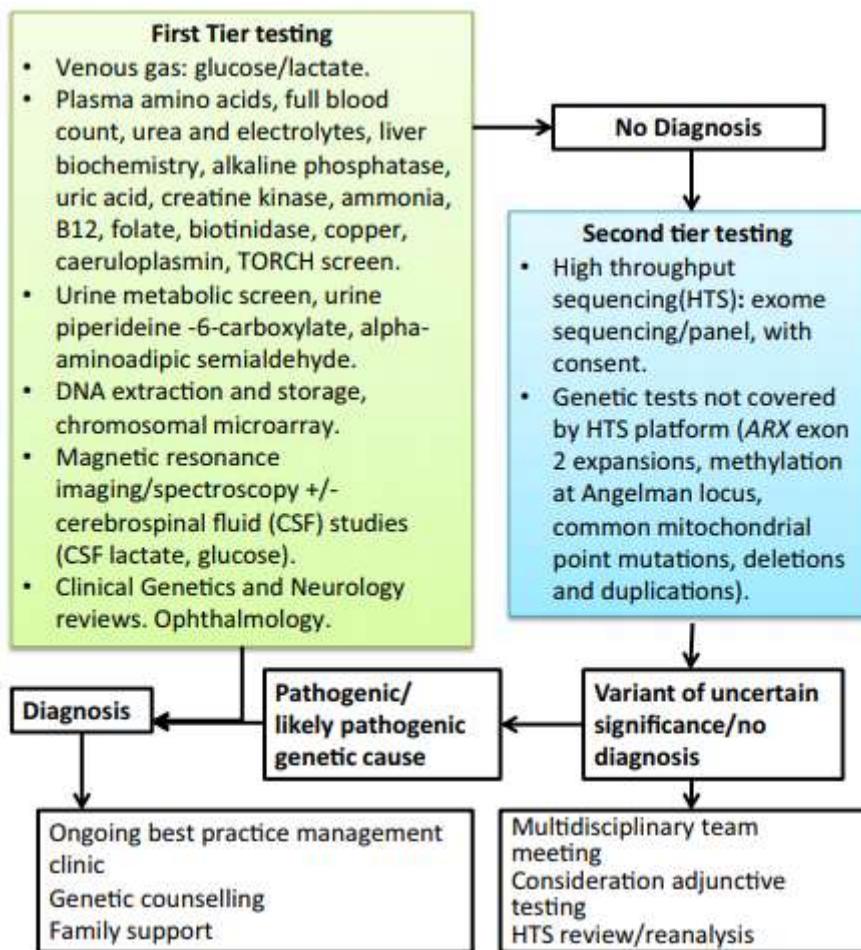


Figura 1.1: Ruta de diagnóstico recomendada para las EE que incorpora secuenciación de alto rendimiento. Adaptada de Palmer et al, 2018¹⁴.

El bajo rendimiento diagnóstico de las pruebas estándar de segundo nivel refleja la dificultad de focalizar las pruebas genéticas para las EE: se reconoce cada vez más que los genes rara vez respetan el concepto de síndromes electro-clínicos, como los propuestos por la ILAE³. Las variantes en un gen pueden causar diferentes síndromes electro-clínicos, y por el contrario cada síndrome electro-clínico puede tener un rango creciente de genes causales^{9,15,16,17}. Además, este campo de la genética está cambiando rápidamente. OMIM actualmente enumera 56 causas genéticas de EE de inicio en la infancia, pero hay unas 200 condiciones monogénicas que incluyen EE¹⁵.

1.4 PAPEL DE LA GENÉTICA EN EL DIAGNÓSTICO

1.4.1 Implicaciones genéticas en la práctica pediátrica

Los problemas médicos asociados con enfermedades genéticas pueden presentarse a cualquier edad, aunque los más evidentes y graves suelen manifestarse durante la infancia. Se estima que 53/1.000 niños y adultos jóvenes tendrán enfermedades con un componente genético significativo. Si se incluyen anomalías congénitas, la tasa aumenta a 79/1.000¹⁸.

1.4.2 Aplicación clínica de los avances genéticos

Los avances en genética han sido extremadamente rápidos en los últimos años. En ocasiones los pacientes pueden presentar unas características que sugieran enfermedades concretas que se asocien a alteraciones genéticas determinadas. En ese caso, el genetista clínico o el neuropediatra pueden solicitar directamente los test genéticos apropiados. Para ello es necesario un buen conocimiento clínico de los síndromes, así como de los mecanismos genéticos que puedan originarlo. Conociendo estos mecanismos, no sólo se obtiene un resultado etiológico, sino la información necesaria para realizar un asesoramiento genético adecuado¹⁹.

Gene name/inheritance [reference]	Age of onset	Seizure type(s)	Development/cognitive functions
<i>DNMI</i> / AD [83]	2 – 13 mo	ES, AAbS, GTCS	GDD, ID
<i>GNAOII</i> / AD [84]	7d – 7 mo	PCS, TCS, IS	GDD, ID
<i>KCNC1</i> / AD [85]	6 – 14 y	MS, TCS	ID, motor disability
<i>CHD2</i> / AD [86, 87]	2 y	MS, AbS, GTCS	GDD, ID
<i>GRIN1</i> / AD [88]	3 mo	MS, PS	GDD, ID
<i>KCNA2</i> / AD [89]	5 – 17 mo	FS, MS, AbS, FSE, GTCS	GDD, ID
<i>KIAA2022</i> / X-linked [90, 91]	2 – 3 y	GS, IS, GMS	ID, hypotonia
<i>LMNB2</i> / AR [92]	6 – 7 y	MS, TCS	GDD, ID
<i>SIK1</i> / AD [93]	Shortly after birth	MS, IS	GDD, ASD
<i>SLC6A1</i> / AR [94]	7 mo – 6 y	MS, MAS, AS	Regression, ID
<i>SPTAN1</i> / AD [95]	3 wk – 3 mo	MS, TS, GTCS, AbS	GDD, ID

AD Autosomal dominant; *AR* Autosomal recessive; *MS* Myoclonic seizures; *AbS* Absence seizures; *GTCS* Generalized tonic-clonic seizures; *GDD* Global developmental delay; *ID* Intellectual disability; *ES* Epileptic spasms; *AAbS* Atypical absence seizure; *PCS* Partial complex seizures; *TCS* Tonic clonic seizures; *IS* Infantile spasms; *PS* Partial seizures; *FS* Febrile seizures; *FSE* Febrile status epilepticus; *GS* Generalized seizures; *GMS* Grand mal seizures; *MAS* Myoclonic-atonic seizure; *AS* Atonic seizure; *TS* Tonic seizures

Figura 1.2: Revisión de la literatura para nuevos genes causantes de EE: Patrón de herencia, edad de inicio, tipos de convulsiones y retraso del desarrollo²⁰.

Los progresos en el campo de la genética molecular han revolucionado el proceso diagnóstico y se están constituyendo en muchos casos en la primera prueba a realizar: la identificación de una variante patogénica cierra el estudio etiológico, ayuda a obtener las respuestas buscadas y a optimizar el seguimiento. A su vez evita la necesidad de muchos otros estudios complementarios y permite el asesoramiento genético y un futuro diagnóstico prenatal y preimplantacional, constituyéndose en herramienta preventiva de primer orden.

El rango de pruebas disponibles para el clínico es amplio, y probablemente pronto estará dominado por el exoma completo y, en un futuro no muy lejano, la secuenciación del genoma completo. Ambas técnicas han demostrado tener mayor rendimiento diagnóstico que la mayoría de pruebas disponibles actualmente. Muchos genes han sido implicados en las epilepsias, con evidencia emergente de la participación de vías multigénicas particulares²¹.

Estos avances genéticos asocian un abaratamiento de estudios menos dirigidos, y la tendencia es, en ausencia de un diagnóstico clínico de certeza, a realizar estudios ampliados a las posibilidades diagnósticas existentes; resulta más económico en tiempo y dinero un estudio amplio que continuar buscando variantes patogénicas específicas en los diferentes genes candidatos²².

Pese a todo ello, todavía quedan pacientes sin diagnóstico etiológico a pesar de haber realizado investigaciones previas exhaustivas, las posibles razones son²²:

- La variante patogénica genética no se ha asociado previamente con el fenotipo de la enfermedad.
- Existe heterogeneidad alélica (mismo gen, pero diferente variante patogénica causante de un fenotipo diferente).
- Existe heterogeneidad de *locus* (distintos genes producen un fenotipo similar).
- Presentación de un solo síntoma o de características inusuales de una enfermedad compleja o rara.

Aunque actualmente la mayoría de las pruebas genéticas tienen como finalidad identificar o confirmar un diagnóstico, en el futuro, el conocimiento de la causa genética subyacente proporcionará nuevos conocimientos sobre la patogénesis de la EE y allanará el camino hacia el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento.

1.4.3 Panel de epilepsias y secuenciación del exoma

El estudio mediante **paneles de genes**, consiste en analizar varios genes de forma simultánea. Está indicado para enfermedades o grupos de enfermedades que pueden

estar causadas por diferentes genes. Tiene la ventaja de que el diseño específico de las sondas de captura permite el análisis de prácticamente la totalidad de los genes estudiados. Simplifica y acelera el estudio, además de ampliar la información obtenida. Sin embargo, tiene grandes limitaciones como la necesidad de rediseñar el experimento si se desea incluir nuevos genes y tampoco permite la identificación de nuevos genes causales para una patología.

La **secuenciación del exoma**, se utilizan kits de captura para todas las regiones codificantes, reguladoras y de *splicing* de todos los genes codificantes del genoma humano (más de 19.000 genes). La mejora de cobertura para los genes en el diseño de los kits de captura de exoma en los últimos años, con una cobertura cercana al 100% para genes OMIM ha permitido que el abordaje por exoma del estudio de enfermedades asociadas a varios genes sustituya a la mayoría de los paneles de genes por captura selectiva. Mediante la tecnología de exoma se obtiene la información de las secuencias de todos los genes codificantes. El análisis de estos datos se realiza según las necesidades, pudiendo realizarse el análisis de un número limitado de genes (exoma dirigido), de todos los genes conocidos asociados a patología (exoma clínico, ~5.700 genes) o bien de su totalidad (19.000-23.000 genes). Para ello se emplean “*pipelines*” de análisis según el objetivo. El *pipeline* es la información detallada de todo proceso de análisis bioinformático con los softwares utilizados en cada fase. Dado que el análisis de datos no sigue un modelo único y la combinación de distintas herramientas de software y bases de datos puede dar lugar a resultados variables es necesario el uso de *pipelines* de análisis eficientes y precisos para la correcta identificación y caracterización de variantes genómicas.

Las nuevas tecnologías están permitiendo la identificación de nuevos genes implicados en patología de modo exponencial. El estudio mediante exoma presenta la gran ventaja de la posibilidad de reanálisis, ya que, al disponer de toda la información sobre el exoma, en caso de considerar posteriormente el estudio de otros genes puede realizarse únicamente a través de un análisis bioinformático. El abordaje más eficiente a día de hoy es el **exoma-trío**, que compara los datos del exoma obtenidos en el paciente con los de sus progenitores. Esta estrategia es muy útil ya que nos permite identificar el origen parental o “*de novo*” de cualquier variante identificada en el paciente, especialmente las variantes de significado incierto. Además, al realizarse el estudio sobre todos los genes incluidos en el exoma permite la identificación de genes potencialmente causales y no están incluidos en los estudios convencionales dirigidos²².

Los estudios a través de exoma pueden servir para la búsqueda de variantes patogénicas causantes de una enfermedad de sospecha en la que están implicados varios genes, para la búsqueda de variantes patogénicas en genes de grupos de enfermedades o para la identificación de variantes patogénicas en ausencia de una sospecha clínica definida. Actualmente y cada vez en más centros, el estudio del exoma es parte de la rutina clínica diagnóstica de enfermedades de origen genético²³. Por otra parte, se ha demostrado que los estudios genéticos mediante exoma son coste-eficientes²⁴ ya que, generalmente a partir del estudio de dos genes, su coste es inferior respecto a la secuenciación Sanger y, por su elevado rendimiento, permiten una mejor tipificación etiológica, descartan hipótesis alternativas, evitan estudios complementarios innecesarios, permiten el asesoramiento genético familiar y reproductivo, mejoran el seguimiento clínico del paciente y, en algunos casos, principalmente en algunas enfermedades metabólicas, se puede realizar un tratamiento precoz. Se han publicado numerosos artículos sobre secuenciación de exoma a nivel clínico^{23,25}.

Number of patients [references]	Number of patients with a genetic defect	Diagnostic yield	Mutations identified in the genes causing epilepsy	Applied method (number of genes)
33 [6]	16	48.5%	<i>SCN1A, SCN2A, STXBP1, KCNJ10, KCTD7, KCNQ3, ARHGEF9, SMS, TPP1, MFSD8</i>	Targeted next generation sequencing (265 genes)
53 [75]	12	23%	<i>SCN1A, SCN2A, STXBP1, CDKL5, MECP2, CASK</i>	Targeted capture sequencing (35 genes)
500 [76]	52	10%	<i>SCN1A, SCN2A, STXBP1, CDKL5, MECP2, CASK, SCN8A, MEF2C, KCNQ2, PCDH19, HNRNPU, MBDS, GABRG2, PNKP, PNPO, SCN8A, UBE3A, CHD2, SYNGAP1</i>	Targeted re-sequencing (65 genes)
19 [77]	7	47%	<i>DCX, ALDH7A1, GPR98, SCN1A, KCNQ2, GABRG2, GRIN2A</i>	Targeted next generation sequencing (67 genes)
28 [78]	6	21.4%	<i>TCF4, SCN1A, CDKL5, KCNQ2, POLG</i>	Targeted next generation sequencing (38-53 genes)
10 [79]	7	70%	<i>SCN1A, CDKL5, EEF1A2, KCNHS, CLCN4, ARHGEF15</i>	Whole exome sequencing
11 [80]	8	72%	<i>GRIN2A, FOLR1, SCN8A, KCNQ2, GRIN2A, ASAHI, SYNJ1, SYNGAP1</i>	Whole exome sequencing
18 [81]	5	28%	<i>PNPO, ADSL, STXBP1, CASK, ALG13</i>	Whole exome sequencing
264 [82]	29	11%	<i>SCN1A, STXBP1, GABRB3, CDKL5, SCN8A, SCN2A, ALG13, DNMI, HDAC4</i>	Whole exome sequencing
356 [83]	53	15%	<i>ALG13, CDKL5, CHD2, DNMI, FASN, GABBR2, GABBR3, GNAO1, HDAC4, KCNQ2, PIK3AP1, RANGAP1, RYRS, SCN1A, SCN2A, SCN8A, SLC35A2, STXBP1, TTN</i>	Whole exome sequencing
234 [84]	4	1.7%	<i>GNAO1</i>	Whole-exome sequencing
84 [85]	26	31%	<i>NEU1, NHLRC1, AFG3L2, EPM2A, CLN6, SACS, TBC1D24, SERPINI1, PRNP, SCN1A, KCNC1</i>	Whole-exome sequencing
6 [7]	4	67%	<i>KCNQ2, SCN2A, KCNT1, PIGQ</i>	Whole genome sequencing

Figura 1.3: Revisión de la literatura para el diagnóstico genético en epilepsia mediante secuenciación exoma completo y secuenciación del genoma²⁰.

1.4.4 Interpretación de los resultados

El exoma humano es el conjunto de secuencias codificantes para proteínas y ARNs con diversas funciones en el organismo y representa el 1-2% del genoma (35-70 Mb frente a 3.200 Mb). Sin embargo, se considera que el 85% de las variantes patogénicas responsables de patologías se encuentran en el exoma.

Las enfermedades genéticas pueden estar causadas por variantes patogénicas, alteraciones cromosómicas o cambios epigenéticos, y pueden encontrarse en todas las células de un individuo o sólo en un porcentaje de ellas (mosaicismo).

Las variantes patogénicas son alteraciones que afectan a la secuencia del ADN codificante o regulador de los diversos genes. Hoy en día se ha pasado a utilizar más el término “variante”, que puede ser clasificada como patogénica, de significado incierto (VOUS o VUS, del inglés *Variant Of Uncertain Significance*) o polimórfica (variación que aparece en al menos el 1% de la población); reservando el término variante patogénica en caso de ser causa demostrada de patogenicidad.

Cuando se identifica una variante en el número de copia (CNV) o polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), se establece si ha sido previamente asociada a patología en las bases de datos existentes, en cuyo caso probablemente será diagnóstico.

Si no ha sido reportado asociado a patología se valora el tipo de variante patogénica y cómo afecta a la secuencia proteica. Las variantes que originan un codón de stop y por tanto generan una proteína truncada se consideran patogénicas, aunque no se hayan descrito previamente. Si se trata de otro tipo de variante y no está reportada previamente se establece como variante de significado clínico incierto (VOUS). En esos casos se realizan los estudios de predicción bioinformáticos. Se han desarrollado una serie de programas y aplicaciones informáticas para predecir los efectos que una determinada variante tendrá sobre la correspondiente proteína y algoritmos de predicción de *splicing*. Estos análisis bioinformáticos de predicción del efecto de las variantes patogénicas o estudios “*in silico*” indican la probabilidad de que sean o no patogénicas.

En los casos de variantes de *splicing* se pueden realizar estudios a partir de ARN para estudiar su efecto y verificar si origina una alteración en el tránskrito. En algunos casos se pueden realizar estudios de expresión proteica o estudios funcionales a partir de fibroblastos.

En todos los casos se estudia a los progenitores; si se trata de una variante patogénica *de novo*, apoya la patogenicidad, aunque hay descripciones de enfermedades de herencia AD donde existe una penetrancia incompleta y expresividad variable, de forma que puede haber progenitores asintomáticos portadores de las variantes patogénicas²².

1.5 TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO

El concepto actual de EE refuerza la idea de que ciertas formas de actividad paroxística epiléptica mantenida en el EEG, principalmente en las edades críticas del neurodesarrollo, alteran el desarrollo madurativo cerebral y conducen a una afectación grave evolutiva en las funciones neurocognitivas y conductuales.

De forma inherente al desarrollo de este concepto, surge la idea de que, al suprimir o prevenir el desarrollo de esta actividad epiléptica sostenida, se podría mejorar la función cognitiva y conductual de estos niños²⁷. Esta premisa es válida siempre y cuando nuestra intervención terapéutica se realice de forma precoz, antes de que la actividad epiléptica deteriore irreversiblemente el normal proceso madurativo cerebral. Sin embargo, hoy en día sigue siendo casi imposible saber si el deterioro evolutivo que sufren estos pacientes se debe sólo al efecto deletéreo de la actividad epileptiforme, a la causa que genera la EE, al efecto de los fármacos usados para tratar la epilepsia o a la combinación de todos estos factores².

Estos datos hacen muy atractiva la idea de tratar con fármacos antiepilepticos (FAEs) a todos los niños que presenten frecuentes anomalías paroxísticas epileptiformes en el EEG, aunque no tengan crisis clínicas. Sin embargo, no existe evidencia suficiente para realizar un tratamiento rutinario con FAE en aquellos niños con descargas EEG subclínicas y problemas de lenguaje, aprendizaje, atención y conducta. No obstante, se debe considerar seriamente el tratamiento con FAE en aquellos pacientes con frecuentes descargas epileptiformes y evidencia clínica de alteración cognitiva transitoria².

El enfoque del tratamiento de la EE comparte algunos de los principios generales del enfoque general del tratamiento de la epilepsia pediátrica. Primero, se selecciona el antiepileptico más apropiado según el síndrome epiléptico, si el diagnóstico específico se ha realizado. Esta elección se basará en la evidencia actual disponible, pero falta para la mayoría de los síndromes de EE infantil y, por lo tanto, el tratamiento deberá

seleccionarse utilizando la evidencia aportada por estudios de series de casos, consenso profesional o experiencia personal. La guía reciente del Instituto Nacional para la Excelencia Clínica usó el consenso de expertos para hacer recomendaciones para el tratamiento de las epilepsias infantiles, incluidos algunos de los síndromes asociados con las EE²⁹. En segundo lugar, el principio general es evitar la politerapia siempre que sea posible, aunque esto es mucho menos factible en las epilepsias graves. Si es necesaria la politerapia, ésta debe limitarse al uso de medicamentos sinérgicos, siempre que sea posible. En tercer lugar, si se realizan cambios en el tratamiento, se debe tomar suficiente tiempo para evaluar la eficacia según la historia natural fluctuante de muchas de las EE. Muchas de las EE se caracterizan por convulsiones que permanecen intratables a medicamentos, por lo que a menudo se racionalizan los objetivos de tratamiento para mejorar la calidad de vida, evitar el ingreso hospitalario, etc.

Como tratamiento complementario al farmacológico, se dispone de otros tratamientos como la dieta cetogénica, alta en grasas, baja en proteínas y muy baja en carbohidratos, que ha demostrado ser efectiva en una amplia gama de epilepsias. Además, la dieta puede ser útil para períodos de exacerbación de crisis graves o si con un inicio abrupto de EE³⁰.

El papel de la cirugía de la epilepsia para niños con epilepsia focal intratable y EEG concordante y hallazgos de imágenes es claro. Otros tratamientos quirúrgicos para las EE incluyen la calostomía corporal o la estimulación del nervio vagal, que pueden ser útiles en una amplia gama de convulsiones³¹.

Además, se requiere un enfoque holístico que considere la epilepsia y el deterioro cognitivo del niño dentro del contexto de la familia, el colegio y el entorno social.

2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Analizar las características clínicas, fenotípicas y el seguimiento en pacientes afectados de EE a los que se les ha realizado el estudio genético con panel de genes de epilepsias, exoma clínico dirigido a epilepsia (exoma trío) durante su seguimiento en las consultas de Neuropediatría del Hospital Infantil Universitario “Miguel Servet” de Zaragoza y valorar las variantes patogénicas que han permitido llegar al diagnóstico etiológico.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Analizar el seguimiento realizado en estos pacientes desde las consultas de Neuropediatría de nuestro Hospital.
2. Conocer qué porcentaje de pacientes han sido diagnosticados mediante los estudios genéticos realizados.
3. Analizar si existe relación entre determinadas variables clínicas (prematuridad, fenotipo, etc.) y obtener un diagnóstico específico.
4. Analizar las diversas variantes patogénicas identificadas en los estudios genéticos realizados.

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las encefalopatías epilépticas (EE) representan un grupo de trastornos epilépticos devastadores que tienen normalmente su inicio durante la infancia y a menudo se caracterizan por una epilepsia farmacorresistente, anomalías electroencefalográficas significativas y persistentes y disfunción o deterioro cognitivo grave.

Los crecientes avances en el campo de la genética nos están permitiendo disponer de novedosos exámenes complementarios en periodos de tiempo cada vez más cortos. El descubrimiento de nuevas técnicas de citogenética y genética molecular, como ha sido el caso del CGH-array (aCGH) para el estudio de la discapacidad intelectual³² o el estudio de epilepsias con paneles de genes dirigidos, ha hecho posible dar un diagnóstico de certeza a un mayor número de niños que previamente sólo podían disponer de un diagnóstico clínico. No obstante, todavía existen pacientes afectados de enfermedades graves e incapacitantes en los que no es posible establecer el diagnóstico etiológico y para los que el estudio del exoma abre una nueva puerta para llegar al mismo.

En los últimos 4 años se ha comenzado a solicitar directamente la secuenciación del exoma para tratar de llegar a la asociación entre enfermedades, fenotipos y genes. El avance más útil en el diagnóstico clínico basado en ADN ha sido la secuenciación del exoma completo. Esto ha permitido la secuenciación masiva en paralelo de cientos de genes de todas las secuencias génicas codificantes (alrededor de 20.000 genes) a partir de una misma muestra.

Esta reciente implantación está incrementando enormemente la velocidad del descubrimiento de genes implicados en esta patología.

Gracias a estos avances en el campo de la genética, se podrán obtener diagnósticos definitivos cuyos beneficios son claros³³: realizar una elección de fármacos antiepilépticos a administrar de forma personalizada y orientada³⁴ o tratamiento metabólico concreto³⁵, evitar realizar pruebas complementarias innecesarias y molestas al niño; poder establecer un seguimiento más adecuado e individualizado con vigilancia de comorbilidades reconocidas, aportar hojas de información a los padres sobre la evolución esperable y revisiones previstas, precisar la estimación de probabilidad de recurrencia en la familia, asesoramiento sobre opciones reproductivas, provisión de "cierre" de diagnóstico, acceso a grupos de apoyo específicos para

familias³⁷ y la posibilidad en un futuro de una nueva dirección en el tratamiento de esta patología con la terapia génica dirigida.

Dado que se trata de un avance relativamente nuevo en el campo de la genética y se está integrando en la práctica pediátrica diaria, consideramos necesaria la realización de estudios que aporten datos sobre la experiencia en su utilización y que nos ayuden a aumentar el rendimiento diagnóstico de esta técnica en nuestro medio.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y analítico, de los pacientes controlados por EE en nuestra Sección de Neuropediatría a los que se les ha solicitado un panel de genes de epilepsia, exoma (trío) clínico dirigido a EE o completo para intentar llegar a su diagnóstico etiológico específico.

4.1.1 Población a estudio

La población a estudio está formada por todos los niños afectados de EE sin diagnóstico etiológico establecido que han sido valorados por la Sección de Neuropediatría del Hospital Infantil Universitario “Miguel Servet” de Zaragoza (unidad de referencia para Aragón, La Rioja y Soria), desde su puesta en funcionamiento y a los que se les ha realizado en su estudio panel de genes de epilepsia y/o secuenciación del exoma (trío).

Los pacientes se han obtenido de la Base de Datos (BD) de Neuropediatría, en la que se incluyen todos los pacientes valorados en dicha Sección desde su puesta en marcha el 15/05/1990 hasta la fecha límite de recogida de datos, 11/07/2018.

En la Base de Datos, a fecha 11/07/2018, hay recogidos 21.595 pacientes, de los cuales 1.889 tenían epilepsia. De estos pacientes se habían realizado pruebas genéticas en 51. De los pacientes afectados de EE, en 2 pacientes se llegó al diagnóstico definitivo solicitando una prueba genética concreta en función de la sospecha clínica (síndrome de Dravet), y en 34 se solicitó estudio genético (panel de genes de epilepsia o exoma-trío).

A continuación, se detallan los criterios de inclusión y exclusión del estudio:

- Criterios inclusión:
 - Niños diagnosticados de EE seguidos en nuestra consulta e incluidos en la BD de Neuropediatría del Hospital Infantil Universitario “Miguel Servet” de Zaragoza.
 - Pacientes con EE sin diagnóstico etiológico establecido de los que se dispone del resultado del estudio genético realizado (panel de genes de epilepsia y/o exoma-trío).

- Criterios exclusión:
 - Pacientes que no cumplen los criterios de inclusión.

4.2 METODOLOGÍA

Se realiza un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y analítico, en el que las variables a analizar de cada paciente fueron recogidas de la BD de Neuropediatría. Las variables estudiadas fueron las siguientes: antecedentes prenatales y perinatales, antecedentes personales y familiares, tiempo de seguimiento en las consultas de Neuropediatría, descripción clínica del tipo de crisis, pruebas complementarias realizadas, fármacos antiepilepticos (FAES) utilizados, resultados de los estudios genéticos realizados (variantes patogénicas identificadas) y situación funcional del niño en la última visita.

4.2.1 Datos perinatales

- Fecha de nacimiento.
- Abortos previos: Número.
- Fecundación in vitro (FIV): Si la concepción del embarazo del paciente fue mediante esta técnica de fecundación o fue de forma espontánea.
- Ecografías prenatales: Si en las ecografías realizadas durante el embarazo se encontró algún hallazgo patológico, y en caso de encontrarse especificar de qué se trataba.
- Crecimiento intrauterino retardado (CIR): Según si durante el periodo fetal se objetivó o no en las ecografías prenatales retraso del crecimiento.
- Diabetes gestacional (DG): Si durante el embarazo la madre padeció diabetes tratada con dieta o con insulina.
- Gemelaridad: Si el embarazo fue o no gemelar.
- Semanas de edad gestacional (SEG)
- Tipo de parto: Según fuera eutóxico, instrumental o mediante cesárea.
- Apgar: Al primer minuto y a los 5 minutos.
- Reanimación: Si tras el nacimiento el recién nacido requirió reanimación.

- Peso de recién nacido (PRN): En gramos.

4.2.2 Antecedentes familiares

- Consanguinidad.
- Antecedentes familiares de crisis epilépticas: Según si en los familiares de primer grado (madre, padre y hermanos) existen o no antecedentes de epilepsia.

4.2.3 Seguimiento realizado en consulta de Neuropediatría

- Primera visita: Fecha de primera consulta del niño en Neuropediatría.
- Última consulta: Última vez que se ha atendido en consulta de Neuropediatría al paciente, haya sido dado de alta o continúe en seguimiento.
- Años de seguimiento: Años (con dos decimales) transcurridos entre la fecha de primera visita y última consulta.
- Año de diagnóstico: Año en el que se obtiene el resultado del panel de epilepsia o de la secuenciación del exoma (trío) y es una variante patogénica, cerrándose así el diagnóstico etiológico.
- Edad al diagnóstico: Años (con dos decimales) que tiene el paciente cuando se realiza el diagnóstico etiológico.
- Resonancia magnética cerebral (RM): Si presenta o no alteraciones en la neuroimagen y se especifica a continuación de cuáles se trata.
- Electroencefalograma (EEG): Según sea normal, focal, multifocal, generalizado o presente algún patrón típico (*hipsarritmia, burst suppression*).

4.2.4 Parámetros del paciente

- Fenotipo: Si es un fenotipo anodino o presenta alteraciones, en cuyo caso se señalan qué malformaciones presenta.
- Otras malformaciones: Según el paciente presente malformaciones asociadas a nivel cardiaco, oftalmológico, gastrointestinal o urológico.

- Edad de inicio de crisis: Edad en la que el paciente presenta la primera crisis convulsiva.
- Tipo de crisis epiléptica: Según si las crisis que padece el paciente son: Parciales simples, parciales complejas, tónico-clónicas, mioclónicas, atónicas, ausencias o generalizadas.
- Frecuencia de crisis máxima: Según presente el paciente crisis a diario, semanal, mensual o de forma ocasional en el momento de la evolución en el que padezca mayor frecuencia de crisis.
- Frecuencia de crisis actual: Según presente el paciente crisis a diario, de forma semanal, mensual u ocasional en la última consulta.
- Fármacos antiepilepticos utilizados por el paciente (FAES): Fármacos que ha precisado el paciente durante los años de seguimiento en consulta.
- Fármacos antiepilepticos utilizados por el paciente en el momento actual (FAES): Tratamiento antiepileptico utilizado por el paciente en la última consulta.
- Situación funcional del niño en la última consulta: Describir cómo se encuentra el niño en tres esferas: Cognitiva, motora y social.

4.2.5 Estudio genético

- Panel epilepsia: Si en el estudio genético se encuentra una variante patogénica que sea diagnóstica o si por el contrario no se encuentre variante patogénica o la hallada no sea diagnóstica (porque se trate de VUS o sea dudosa).
- Exoma (trío): Si se encuentra una variante patogénica que sea diagnóstica o no, o la identificada no sea diagnóstica (porque se trate de VUS o sea dudosa).
- Estudios genéticos previos: Se reflejan los estudios genéticos complementarios realizados previos al panel de genes de epilepsias y exoma (trío). Pueden ser: Cariotipo, Array-CGH, variantes patogénicas puntuales, o estudios de síndromes específicos: Síndrome X Frágil, Síndrome de Angelman, etc.
- Anomalías asociadas a la variante patogénica: Describir las anomalías que aparecen descritas en la literatura asociadas a la variante patogénica encontrada en el exoma del paciente.

Por último, se revisaron los informes genéticos de cada paciente y se clasificó a los pacientes en función del resultado del mismo en normal, patológico o dudoso.

- **Normal:** No se encuentran alteraciones que justifiquen la EE o se ha encontrado variantes patogénicas de significado incierto (VOUS o VUS), no responsables de la patología que presenta el paciente.
- **Patológico:** La alteración encontrada determina un diagnóstico etiológico de su EE, ya que es responsable de la patología que padece el paciente.
- **Dudoso:** Se encuentran variantes patogénicas no descritas previamente en la literatura asociadas a EE ni como variantes de la normalidad, por lo que se debe valorar el tipo de variante patogénica y cómo afecta a la secuencia proteica. Se pueden realizar estudios de expresión proteica o estudios funcionales y estudiar a los progenitores.

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y BASE DE DATOS

Con los datos obtenidos de la BD de Neuropediatría se realizó el estudio descriptivo y analítico con el programa *SPSS Statistics v.22.0 para Windows*.

4.3.1 Análisis descriptivo

Se calculó la distribución de frecuencias de los porcentajes de cada categoría para cada variable cualitativa (sexo, FIV, fenotipo dismórfico, antecedentes familiares positivos para epilepsia, retraso psicomotor, etc.). Las variables estudiadas cuantitativas (SEG, edad, edad al diagnóstico, edad de inicio de las crisis, etc.) se exploraron con la pruebas de conformidad de Kolmogorov–Smirnov (prueba de bondad de ajuste a una distribución normal) y de Shapiro-Wilk. Se estudió la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Se calcularon indicadores de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar).

4.3.2 Análisis estadístico

La asociación entre los factores estudiados y el resultado del panel/exoma se investigó mediante pruebas de contraste de hipótesis, con comparación de proporciones cuando ambas variables eran cualitativas (chi-cuadrado y corrección con la prueba exacta de Fisher cuando más del 25% de las casillas de la tabla de contingencia presentaban una n menor a 5) y comparaciones de medias cuando una de ellas era cuantitativa (t de Student, y si no seguían la distribución normal el test de la U de Mann-Whitney o el de Kruskall-Wallis). Se completó el análisis con la construcción de modelos de

regresión logística binaria, tomando como variable dependiente los resultados del panel/exoma e independientes aquellas variables clínicas que parecían más interesantes, ya que ninguna presentaba diferencias estadísticamente significativas en los contrastes anteriores.

El análisis se realizó tomando como estadísticamente significativo $p<0,05$.

El paquete estadístico utilizado fue el *PASW Statistics*.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

El estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki (59^a Asamblea General, Seúl, Corea, Octubre 2008)³⁸, las Normas de Buena Práctica Clínica³⁹ y cumpliendo la legislación vigente y la normativa legal vigente española que regula la investigación clínica en humanos (RD 223/2004 sobre ensayos clínicos y Ley 14/2007 de Investigación Biomédica)^{40,41}.

Los datos fueron protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación, considerando la información generada en este estudio como estrictamente confidencial, permitiéndose, sin embargo, su inspección por las Autoridades Sanitarias. Así mismo se solicitó la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón.

5. RESULTADOS

5.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO

Realizamos la valoración de los 34 pacientes incluidos en el estudio.

5.1.1 Datos de filiación y perinatales

- La fecha de nacimiento de los pacientes incluidos se sitúa desde junio de 1997 hasta septiembre de 2014.
- De los 34 pacientes incluidos el 44,1% fueron mujeres y el 55,9% varones.
- De la muestra el 2,9% fueron concebidos mediante fecundación in vitro (FIV). Se encontraron hallazgos patológicos en la ecografía prenatal de 1 paciente (2,9%). Fueron CIR el 2,9% de los pacientes. Padecieron diabetes gestacional (DG) el 8,8% de las madres. Hubo 1 embarazo gemelar.
- En cuanto a los datos perinatales, las semanas de edad gestacional se sitúan en una media de $38,53 \pm 2,36$ semanas. El tipo de parto fue en la mayoría de los casos eutóxico: 52,9%, instrumental en el 14,7% y un 32,4% fueron cesáreas. El peso medio al nacimiento fue de $3.078,33 \pm 619,2$ g, el Apgar al minuto 1 fue de media 8 ± 1 y al minuto 5 fue de 9 ± 1 . El 8,8% de los recién nacidos precisó reanimación tras el nacimiento.

5.1.2 Antecedentes familiares

- Existen antecedentes de abortos previos en el 26,5% de los embarazos.
- Se detectó consanguinidad en el 2,9% de los casos.
- Se identificaron antecedentes familiares de crisis epilépticas en el 17,6% de los casos.

5.1.3 Seguimiento realizado en la consulta de Neuropediatria

- La media de años de seguimiento en la consulta es de $7,90 \pm 4,75$ años. El mínimo de seguimiento ha sido de 1 año mientras que el máximo se sitúa en 17,67 años. Esto se debe a que algunos pacientes fueron diagnosticados a una edad temprana mientras que en otros se solicitó prueba diagnóstica genética antes de pasar a ser controlados en la consulta de Neurología de adultos.
- La edad media de diagnóstico fue de $8,89 \pm 5,24$ años, mediana de 10 años. Edad mínima de llegar al diagnóstico es de 2,63 años y la máxima es de 18,30 años.
- En las RM cerebrales se encontraron hallazgos patológicos en el 47,1% de los casos. Las alteraciones encontradas fueron: Leve atrofia encefálica con adelgazamiento de sustancia blanca, dilatación tetraventricular con atrofia supratentorial y en cerebelo,

menor desarrollo de un hemisferio con alteraciones morfológicas periventriculares, áreas de displasia cortical, alteraciones de sustancia blanca subcortical y alguna zona yuxtacortical, alteraciones en FLAIR en sustancia blanca periventricular, hipoplasia de cuerpo calloso con dilatación de ventrículos laterales, megacisterna magna, atrofia encefálica difusa cortico-subcortical...

- El electroencefalograma (EEG) se encontraba alterado en el 100% de los casos y el patrón más repetido fue generalizado, en el 70,6% de los pacientes, 8,8% fue focal, 8,8% multifocal, 8,8% presentaba un patrón característico (2 casos *burst-suppression* y 1 caso hipsarritmia).

EEG					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Focal	3	8,8	8,8	8,8
	Multifocal	3	8,8	8,8	17,6
	Generalizado	25	73,5	73,5	91,2
	Patrón característico	3	8,8	8,8	100,0
	Total	34	100,0	100,0	

Figura 5.1: Tabla de los resultados obtenidos en los EEG de la muestra.

5.1.4 Parámetros del paciente

- Fenotipo: Presentaba alteraciones el 24,2%. Ejemplos de alteraciones fenotípicas encontradas: En un paciente se objetivó retromicrognatia y labio superior fino con boca en carpa; en otro raíz nasal estrecha y ojos rasgados; en otro microcefalia, retrognatia, *philtrum* largo; y otro caso presentaba microftalmia con orejas de baja implantación.
- Malformaciones asociadas: El 11,8% presentaba malformaciones cardíacas, el 14,7% oftalmológicas. El 75,8% restante no presentó ninguna malformación.
- La media de edad de presentación de la primera crisis fue de $13,79 \pm 17,09$ meses, siendo la mediana de 5,50 meses. La crisis más temprana comenzó a los 3 días de vida, el caso que comenzó con mayor edad fue con 3 años.
- Tipo de crisis epiléptica: el 64,7% de los pacientes presentaron crisis generalizadas, mientras que el 2,9% presentó crisis parciales simples y el 11,8% crisis parciales

complejas.

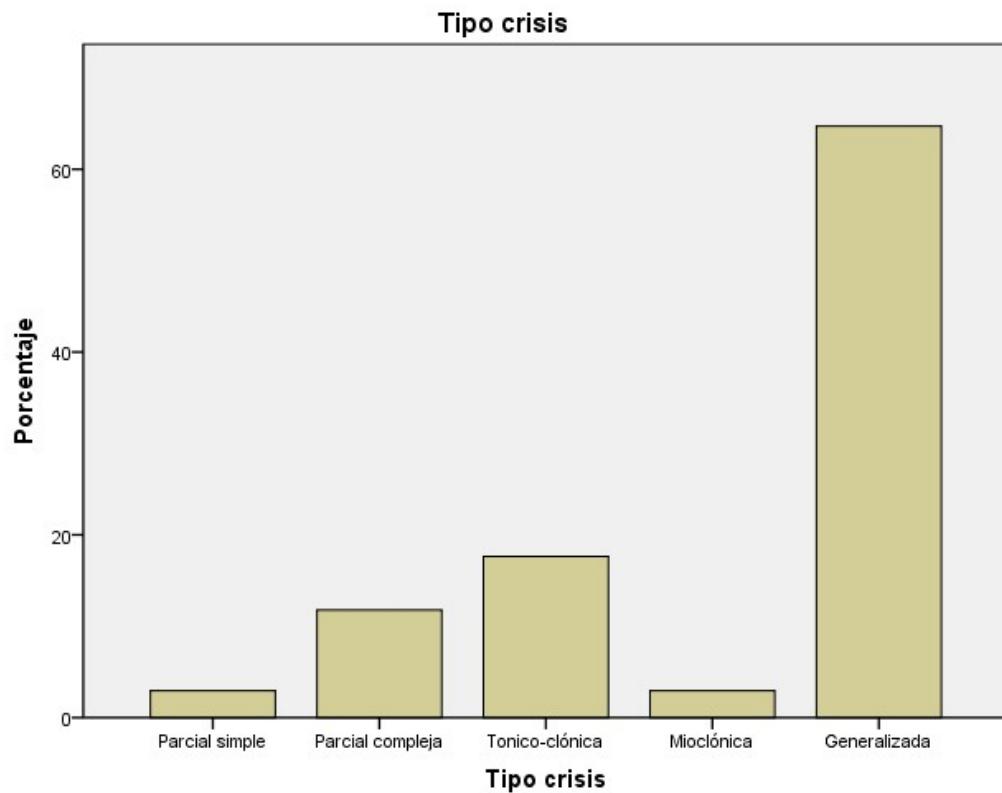


Figura 5.2: Gráfica con los porcentajes de los tipos de crisis: Parcial simple, parcial compleja, tónico-clónica, mioclónica, generalizada.

- Frecuencia máxima de crisis durante el seguimiento de estos pacientes en consulta: hasta el 73,5% de los pacientes presentaron crisis a diario, 5,9% mensual y 20,6% de forma ocasional.
- Sin embargo, en la última visita la frecuencia de crisis era mayoritariamente ocasional (55,9%), siendo los pacientes que continuaban presentando crisis a diario un 26,5%, semanal 14,7% y mensual 2,9%.

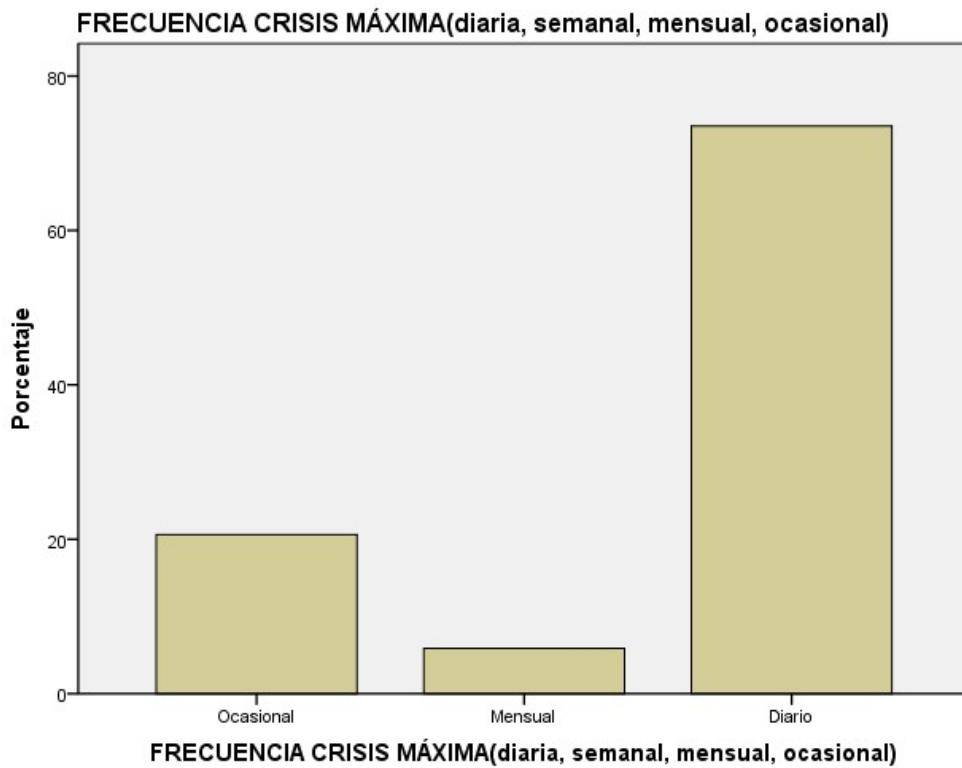


Figura 5.3: Gráfico con el porcentaje de frecuencia máxima de crisis en la muestra.

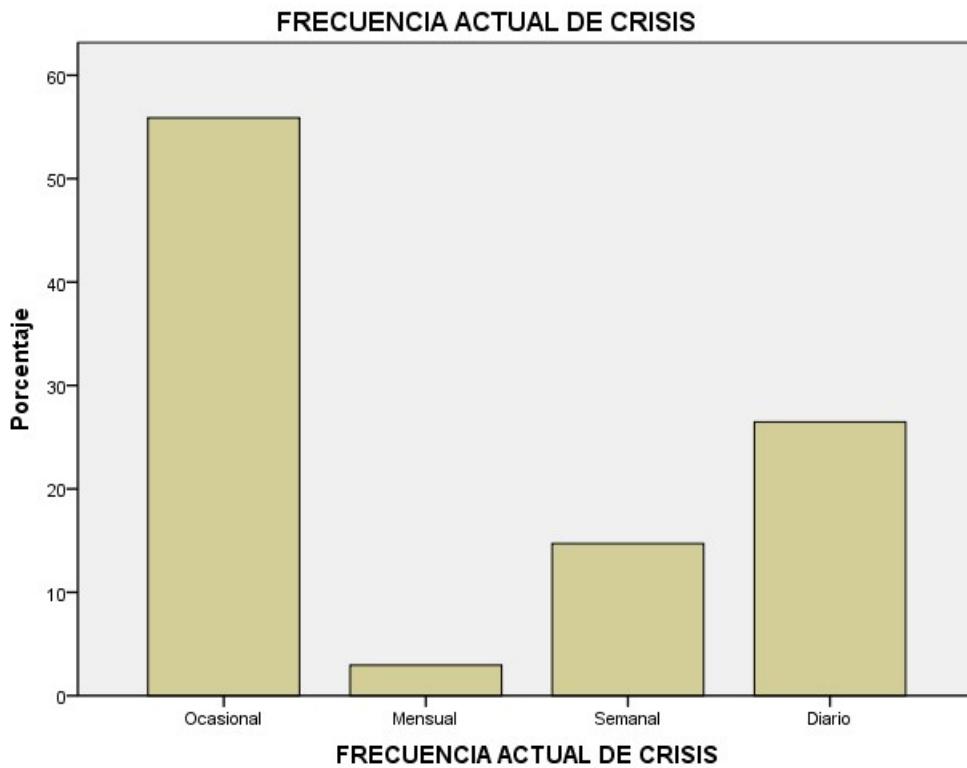


Figura 5.4: Gráfico sobre el porcentaje de frecuencia actual de crisis.

- Durante los años de seguimiento estos pacientes precisaron de media $6,03 \pm 3,68$ FAES. En la última consulta los pacientes utilizaban de media $1,62 \pm 1,07$ FAES.
- Situación funcional del niño en la última consulta: a nivel cognitivo el 94,1% presentaba algún grado de discapacidad intelectual. Respecto a la parte motora presentaban tetraparesia espástica el 52,9%, torpeza motora el 20,6% y no tenían alteraciones motoras el 26,5%. Por último, en cuanto a la esfera social presentaban nulo o muy pobre contacto el 38,2%, un 38,2% estaban catalogados de trastorno del espectro autista (TEA), un 8,8% presentaban trastornos de conducta no presentando alteraciones a nivel social el 14,7% de la muestra.

5.1.5 Estudios genéticos de los 34 pacientes

- Panel de genes de epilepsia: Realizado en 18 pacientes (52,9%). Aportó diagnóstico etiológico específico en 3 casos (16,6%).
- El exoma clínico dirigido se realizó en 17 pacientes (50%), de los pacientes que forman la muestra y el exoma (trío) en 19 (55,9%). En conjunto, el estudio del exoma consiguió un diagnóstico definitivo en 7 pacientes (36,8%) de los casos.
- De las variantes patogénicas encontradas en el panel de genes de epilepsia y exoma, el 52,4% fueron catalogadas de VOUS, mientras que el 47,6% de variantes patogénicas.
- Mediante el panel de genes de epilepsia y el exoma se llegó a un 29,4% de diagnósticos etiológicos definitivos, es decir, 10 pacientes del total de 34 pacientes estudiados.
- Se habían realizado estudios diagnósticos genéticos previos en el 76,5% de la muestra. De ellos, cariotipo en el 52,9%, CGH-array en el 61,8%, S. X Frágil en 32,4% casos y estudio de gen único en el 47,1%. Se realizó directamente el exoma sin otras pruebas genéticas previas en el 23,5% de los pacientes.

A continuación, se presenta una tabla resumen de todos los pacientes con diagnóstico genético definitivo y sus principales características clínicas. A cada paciente se le ha asignado un número (caso 1, caso 2, etc.) para simplificar y referirnos a ellos de esta forma a lo largo del texto.

TABLA 5.1. Pacientes con diagnóstico genético definitivo y sus principales características clínicas.

CASO	EDAD INICIO CRISIS (mes)	EDAD AL DIAGNÓSTICO (años)	EEG	FENOTIPO FÍSICO/FUNCIONAL	ESTUDIO GENÉTICO	VARIANTE PATOGÉNICA	OTRAS CARACTERÍSTICAS
1	6	11	Hipsarritmia	Anodino Retraso cognitivo	Exoma	Gen <i>HNRNPU</i> : c.364G>A; p.Glu122Lys	RM normal Malformación oftálmologica
2	5	14	<i>Burst-suppression</i>	Anodino Retraso cognitivo	Exoma-trío	Gen <i>SCN1A</i> : c.301C>T	RM: Leve atrofia cortical
3	3	6	Focal	Raíz nasal estrecha, ojos rasgados Discapacidad intelectual	Exoma-trío	Gen <i>PIGN</i> : c.283C>T; p.(Arg95Trp) y c.1783_1795del	RM: Leve atrofia encefálica difusa con adelgazamiento de sustancia blanca CIA-OS y estenosis pulmonar leve
4	3er. día	2	Generalizado	Microcefalia, orejas implantación baja Discapacidad intelectual	Exoma-trío	Gen <i>GNAO1</i> : c.596 T>C	RM: Alteración sustancia blanca subcortical y zona yuxta-cortical de zona temporal y parietofrontal Discinesias orolingüales
5	15	18	Focal	Macrocefalia, rasgos toscos Discapacidad intelectual	Exoma-trío	Gen <i>KMT5B</i> : c.1295_1296del; p.(Ile432Lysfs*2)	RM: Leve dilatación ventrículos laterales de predominio posterior
6	12	4	Generalizado	Anodino Discapacidad intelectual y trastorno espectro autista	Exoma-trío	Gen <i>TBR1</i> : c.1118A>G (p.Gln373Arg) Gen <i>SIRT5</i> : c.28C>T (p.Arg10*)	RM normal
7	3	2	Generalizado	Anodino Retraso cognitivo	Exoma-trío	Gen <i>RHOBTB2</i> : c.1531C>T p(Arg511Trp)	RM: Sutiles alteraciones en <i>flair</i> en sustancia blanca periventricular Episodio de encefalopatía aguda con edema cerebral localizado y hemiparesia; respuesta corticoide
8	7	11	Generalizado	Anodino Discapacidad intelectual Tetraparesia espástica	Panel genes epilepsia	Gen <i>GABRG2</i> : c.316G>A (p.Ala106Thr)	RM normal Fotosensibilidad
9	2	10	Multifocal	Anodino Discapacidad intelectual	Panel genes epilepsia	Gen <i>STXBP1</i> : c.1651C>T (p.Arg551Cys)	RM normal
10	36	6	Generalizado	Anodino Discapacidad intelectual	Panel genes epilepsia	Gen <i>CHD2</i> : c.3734+2_3734+5delinsCA	RM normal

5.2 ESTUDIO ANALÍTICO

De la muestra estudiada (n=34), se solicitó el exoma-trío en 27 casos (79,4%), de estos se llegó a un resultado patogénico (diagnóstico etiológico definitivo) en 7 casos (25,9%). El rendimiento diagnóstico del exoma en esta muestra fue de un 25,9%. El resto de casos (74,07%) se consideró que el resultado fue de significado incierto. En el caso del panel de genes de epilepsia en la misma muestra (n=34), se solicitó en 18 casos (52,9%), de los cuales se llegó a un diagnóstico etiológico en 3 casos (16,6%). El rendimiento diagnóstico del panel fue de un 16,6 %.

Se analizaron las características demográficas, perinatales y clínicas según el resultado del test genético de panel de epilepsia y exoma (según aportara resultados normales o patogénicos). No se observaron diferencias estadísticamente significativas para la mayoría de las variables estudiadas en los dos grupos.

Se ha realizado el estudio estadístico tal y como queda reflejado en el apartado de material y métodos y que se resume en las tablas que se presentan a continuación.

Tabla 5.2. Estudio sobre las variables de datos perinatales entre el grupo de Panel/Exoma normal y el grupo de Panel/Exoma alterado.

Variable	Panel/Exoma normal (n=24)	Panel/Exoma patológico (n=10)	p
Sexo (%)			0,755
- Mujeres	45,8	40	
- Hombres	54,16	60	
Edad (media años ±DE)	10,13 ±4,78	10,89 ±5,50	0,210
FIV (%)	4,2	0	0,512
Eco prenatal alterada (%)	4,2	0	0,512
CIR (%)	4,2	0	0,512
Diabetes gestacional (%)	8,3	10	0,876
Embarazo gemelar (%)	4,2	0	0,512
Tipo de parto (%)			0,585
- Eutócico	50	60	
- Instrumental	12,5	20	
- Cesárea	37,5	20	
Apgar min 1 ≤7 (%)	13,6	10	0,773
Apgar min 5 ≤7 (%)	4,5	0	0,493
Reanimación tras parto (%)	12,5	0	0,242
SEG (media semanas ±DE)	38,25 ±2,73	39,20 ±0,78	0,293
Prematuridad (%)	16,7	0	0,169
PRN (media g ±DE)	2.952,83 ±634,22	3367 ±497,12	0,077
PRN DE (media ± DE)	-0,7 ±1,17	0,27 ±1,33	0,462
DE: Desviación estándar, p: Nivel de significación estadística (p <0,05).			

Tabla 5.3. Estudio sobre las variables de antecedentes familiares entre el grupo de Panel/Exoma normal y el grupo de Panel/Exoma alterado.

Variable	Panel/Exoma	Panel/Exoma	P
	normal (n=24)	alterado (n=10)	
Abortos (%)	29,2	20	0,581
Consanguinidad (%)	4,2	0	0,512
AF crisis (%)	25	0	0,081
p: Nivel de significación estadística (p< 0,05).			

Tabla 5.4. Estudio sobre las variables de datos clínicos de pacientes entre el grupo de Panel/Exoma normal y el grupo de Panel/Exoma alterado.

Variable	Panel/Exoma	Panel/Exoma	P
	normal (n=24)	alterado (n=10)	
Fenotipo (%)	21,7	30	0,611
Edad inicio crisis (media meses ± DE)	15,83 ± 19	8,90 ± 10,56	0,288
Tipo de crisis (%)			0,617
- Parcial	16,7	10	
- Generalizada	83,3	90	
Frecuencia máxima crisis (%)			0,763
- ocasional	25	30	
- diario	75	70	
Frecuencia actual crisis (%)			0,763
- ocasional	75	70	
- diario	25	30	
Nº máx. FAES usados (media ± DE)	6,13 ± 3,67	5,8 ± 3,88	0,819
Nº actual FAES usados (media ± DE)	1,67 ± 1,12	1,50 ± 0,97	0,687
Otras malformaciones (%)	20,8	40	0,248

Años seguimiento en consulta (media ±DE)	7,93 ±4,73	7,81 ±5,06	0,949
Nivel cognitivo (%)			0,347
- Normal	8,3	0	
- Discapacidad intelectual	91,7	100	
Nivel motor (%)			0,955
- Normal	25	30	
- Torpeza motora	20,8	20	
- Tetraparesia espástica	54,2	50	
Nivel social (%)			0,183
- Normal	20,8	10	
- Contacto pobre	41,6	30	
- Trastorno conducta	4,1	20	
- TEA	33,3	50	

DE: Desviación estándar, p: Nivel de significación estadística (p< 0,05).

Tabla 5.5. Estudio sobre los resultados de otros exámenes complementarios realizados entre el grupo de Panel/Exoma normal y el grupo de Panel/Exoma alterado.

Variable	Panel/Exoma	Panel/Exoma	P
	normal (n=24)	alterado (n=10)	
RM alterada (%)	50	40	0,595
EEG (%)			0,132
- Normal	0	0	
- Focal	4,1	20	
- Multifocal	12,5	0	
- Generalizado	79,1	60	
- Patrón característico	4,1	20	
Pruebas genéticas previas (media ±DE)	1,67 ±1,46	2,60 ±1,35	0,093

DE: Desviación estándar, p: Nivel de significación estadística (p<0,05).

5.2.1 Correlaciones entre variables

Tabla 5.6: Correlación entre la edad de inicio de las crisis, FAES usados, edad de diagnóstico y años de seguimiento.

		Edad inicio crisis	Nº FAES usados	Nº FAES actual	Nº pruebas genéticas	Edad al diagnóstico	Años seguimie nto
Edad inicio crisis	P de Pearson	-	0,131	0,146	0,193	0,051	0,013
	P	-	0,460	0,411	0,275	0,889	0,941
Nº FAES usados	P de Pearson	-	-	0,647	-0,167	-0,099	-0,053
	P	-	-	0,000*	0,345	0,786	0,768
Nº FAES actual	P de Pearson	-	-	-	-0,225	-0,182	-0,249
	P	-	-	-	0,201	0,614	0,155
Nº pruebas genéticas	P de Pearson	-	-	-	-	0,352	0,294
	P	-	-	-	-	0,318	0,091
Edad al diagnóstico	P de Pearson	-	-	-	-	-	0,554
	P	-	-	-	-	-	0,096
Años seguimiento	P de Pearson	-	-	-	-	-	-
	P	-	-	-	-	-	-

FAE: Fármaco antiepiléptico; P de Pearson: Coeficiente de correlación de Pearson; p: Nivel de significación estadística.

Entre las variables, edad a la que se llega al diagnóstico etiológico y años de seguimiento en consultas de Neuropediatría se encuentra una correlación positiva moderada (P de Pearson 0,554), no estadísticamente significativa ($p=0,096$), probablemente por la muestra de tamaño reducido. Esto indica que parece que a mayor edad a la que se llega al diagnóstico etiológico, existe mayor seguimiento en consultas.

Entre la variable edad al diagnóstico y número de pruebas diagnósticas genéticas realizadas con anterioridad a solicitar el panel de genes de epilepsia o exoma; se observa que presentan una correlación positiva débil (P de Pearson 0,352), que no es estadísticamente significativa ($p=0,318$). Lo que muestra que parece existir relación y que a mayor edad a la que se llega al diagnóstico, mayor número de pruebas genéticas se han solicitado previamente.

Por otro lado, también es destacable la correlación entre el número de FAES utilizados durante el seguimiento de estos pacientes con el número de FAES utilizados en la última consulta, que tienen una correlación positiva moderada (P de Pearson 0,647). Esta correlación sí que es estadísticamente significativa ($p=0,000$); lo que indica que a mayor número de FAES utilizados durante el seguimiento, más número de FAES utilizan estos pacientes en la actualidad (a fecha de última consulta de Neuropediatría).

A continuación, vamos a mostrar las gráficas que muestran las correlaciones existentes entre las variables que hemos comentado.

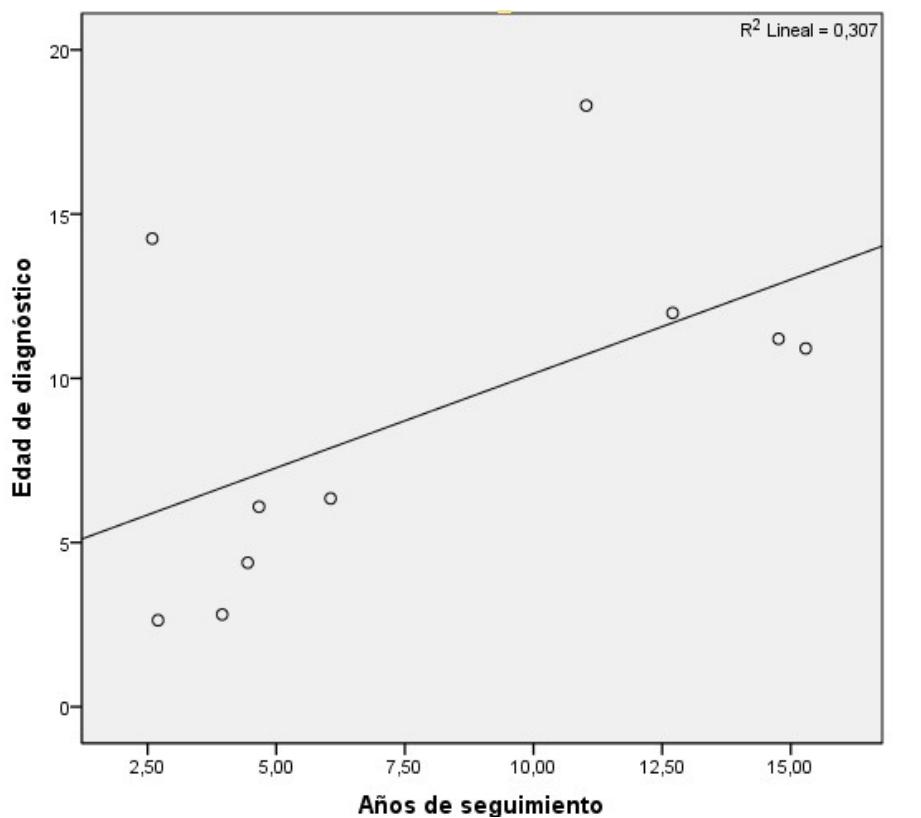


Figura 5.5: Gráfico de correlación entre las variables edad al diagnóstico y años de seguimiento.

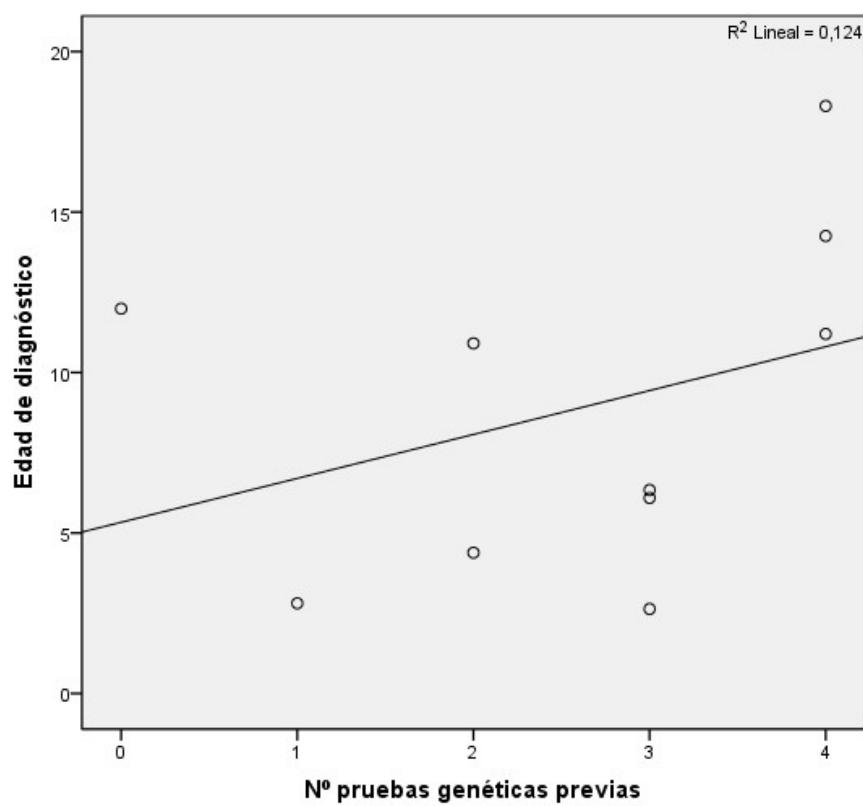


Figura 5.6: Gráfico de correlación entre las variables edad al diagnóstico y años de seguimiento.

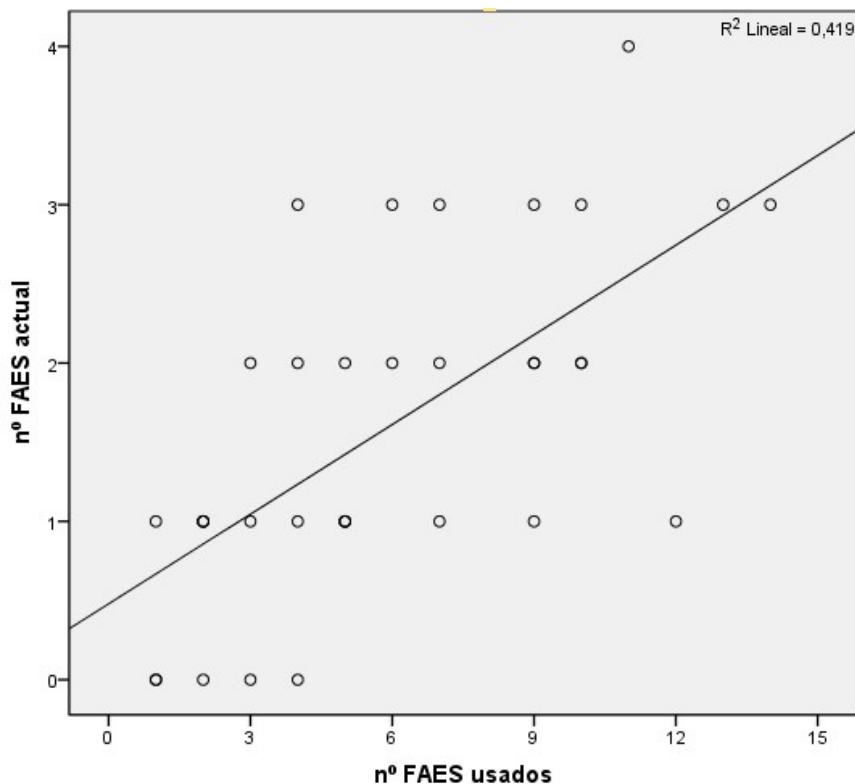


Figura 5.7: Gráfico de correlación entre las variables número de FAES utilizados y número de FAES usados en la actualidad.

5.2.2 Regresión

Tabla 5.7: Tabla de regresión logística binaria. Variables estudiadas: fenotipo, RM patológica, EEG, malformaciones asociadas, frecuencia máxima de crisis.

Variables	OR (IC 95%)	P
Fenotipo	1,5 (0,2-8,2)	0,612
RM alterada	0,6 (0,1-2,9)	0,596
EEG	2,5 (0,5-12,5)	0,256
Malformaciones asociadas	2,5 (0,5-12,5)	0,256
Frecuencia máxima crisis	0,7 (0,5-4)	0,764

RM: Resonancia magnética, EEG: Electroencefalograma, OR: Odds ratio, p: Nivel de significación estadística.

Se realiza regresión logística binaria eligiendo algunas variables clínicas, consideradas más interesantes, aunque no se haya llegado previamente a diferencias significativas

en las tablas de contingencia. Se encuentra que con fenotipo alterado parece que hay una probabilidad 1,5 veces mayor (OR: 1,5) de llegar a tener un diagnóstico alterado, aunque no es estadísticamente significativo. Por otra parte, en cuanto a malformaciones asociadas en estos pacientes, parece que hay 2,5 veces mayor probabilidad de diagnóstico genético definitivo (OR: 2,5), aunque tampoco es estadísticamente significativo. No se llega a diferencias estadísticamente significativas; esto puede ser debido al pequeño tamaño muestral o que no exista relación entre estas variables y llegar a un diagnóstico genético cerrado.

6 DISCUSIÓN

6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA Y COMPARATIVA ENTRE GRUPO DE PANEL/EXOMA ALTERADO Y GRUPO PANEL/EXOMA NORMAL

La proporción de hombres y mujeres fue predominante de hombres tanto en el grupo de panel/exoma alterado como en el panel/exoma normal, siendo superior en el grupo con resultado patológico (60%), respecto a 54,16% en el grupo sin diagnóstico. Como se recoge en otras muestras que los trastornos genéticos, EE son más frecuentes en varones.

Se encuentra mayor porcentaje de prematuridad en el grupo sin diagnóstico (16,7%), que en el grupo con diagnóstico (0%), no siendo estadísticamente significativas estas diferencias ($p=0,169$). Revisando las variables perinatales estudiadas, se observa que no se encuentran en general alteraciones perinatales en estos pacientes afectados de EE, ni en los que no se llega a diagnóstico, ni en los que sí se llega. Aunque es cierto que hay mayor número de FIV (4,2% vs 0%), ecografías prenatales con hallazgos alterados (4,2% vs 0%), prematuridad (16,7% vs 0%), bajo peso en los pacientes (media de DE $-0,7 \pm 1,17$ vs $0,27 \pm 1,33$) pertenecientes al grupo sin diagnóstico; no siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Puede ser debido a que las malformaciones cerebrales estructurales, las lesiones en el nacimiento y los errores innatos del metabolismo pueden causar EE, pero una vez que se tienen en cuenta estas causas; ya que estamos revisando pacientes en los que se realiza el panel o exoma porque no se tiene filiada la etiología, se presume que la mayoría de los casos restantes de EE tienen una base genética. También es posible que estos casos de EE están condicionados por una variante patogénica genética, por las crisis o estado epiléptico sin crisis, sin tener relación con incidencias perinatales. En la literatura no se hace referencia a que exista relación entre llegar a un diagnóstico genético cerrado y prematuridad u otras variables perinatales, si bien hay estudios que concluyen que existe relación entre prematuridad e incidencia de epilepsia ⁴².

Antecedentes en familiares de primer grado con crisis epilépticas se encontraron 6 (25%), todos ellos dentro del grupo con resultado no alterado, no siendo estadísticamente significativo ($p=0,081$). Si bien es cierto que pacientes con epilepsia tienen antecedentes familiares ⁴³ en un porcentaje elevado, en la literatura se describe hasta un 73,9%, no se encuentra relación a favor de encontrar genética alterada con

tener antecedentes familiares. Esto probablemente suceda porque la mayoría de las variantes patogénicas encontradas en estos pacientes son de *novo*.

Dentro de las variables clínicas estudiadas de los pacientes, se encuentra fenotipo peculiar con más frecuencia en el grupo con resultado genético alterado (30% frente al 21,7% respectivamente), como se recoge en otras series; aunque⁴³ en nuestro caso no son diferencias estadísticamente significativas ($p=0,611$). Los pacientes de este grupo iniciaron las crisis a una edad menor ($8,90 \pm 10,56$ meses) que en el grupo con resultado normal ($15,83 \pm 19$ meses). Así aparece reflejado en la literatura, que los pacientes identificados con variantes patógenas tuvieron un inicio más temprano de convulsiones (mediana de 3,6 m frente a 1,1 y, $p<0,001$, OR 0,6/año, $p<0,02$) en comparación con aquellos sin variantes patógenas⁴⁴. Esto sugiere que los pacientes con EE de inicio temprano pueden ser más propensos a portar variantes patogénicas de *novo* que causan excitabilidad anormal e interrumpen la plasticidad sináptica en el cerebro en desarrollo⁴⁵. Hacen falta más estudios con un mayor número de pacientes para llegar a determinar si esta tendencia que se muestra en nuestro estudio es estadísticamente significativa; hecho que podría tener importantes implicaciones a nivel de pronóstico y de tratamiento.

En ambos grupos el tipo de crisis más frecuente fue generalizadas (como suele corresponder a las epilepsias de origen genético en contraposición a las secundarias a lesiones, que son parciales), siendo más frecuente en el grupo con resultados alterados (90% y 83,3% respectivamente), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,617$). En ambos grupos la frecuencia máxima de crisis fue diaria y en el momento de la última consulta fue ocasional; no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la frecuencia de crisis máxima ($p=0,763$), ni en última visita en consulta ($p=0,763$). En cuanto al número de FAES utilizados con estos pacientes, tanto en número máximo de fármacos en el grupo con resultado normal ($6,13 \pm 3,67$), grupo con resultado alterado ($5,8 \pm 3,88$), como en número de fármacos utilizados en la última consulta (sin diagnóstico: $1,67 \pm 1,12$, con diagnóstico: $1,50 \pm 0,97$), es superior en el grupo con resultado genético normal que en el grupo con resultado patológico; aunque los resultados no son estadísticamente significativos ($p=0,819$, $p=0,687$).

En el grupo sin diagnóstico se encontraron menos malformaciones (20,8%), que en el grupo con diagnóstico (40%), no siendo significativa esta diferencia ($p=0,248$). Esto sigue en la línea de relación que hemos mostrado con el fenotipo alterado, de que, a más alteraciones asociadas, más probabilidad de encontrar diagnóstico genético⁴³.

El porcentaje de pacientes con discapacidad intelectual dentro del grupo con diagnóstico fue del 100%, siendo superior al grupo sin diagnóstico, 91,7%; no siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,347$), ya que la mayoría de pacientes afectados de EE padecen discapacidad intelectual en distinto grado de gravedad.

Las pruebas complementarias que se han revisado han sido resonancias magnéticas cerebrales, electroencefalogramas, y las pruebas genéticas solicitadas previamente al panel de epilepsia y al exoma. La resonancia aportó resultados alterados con mayor frecuencia en el grupo sin diagnóstico que en el grupo con diagnóstico (50% y 40% respectivamente). Esto parece estar en concordancia con lo encontrado en la literatura, en que los resultados de la RM suelen ser normales o muestran alteraciones leves o inespecíficas⁴⁵; se muestra un porcentaje amplio de pacientes sin lesión cerebral (40,4%) en los que se llega a diagnóstico genético⁴⁷.

Dentro de las alteraciones observadas en la RM cerebral en nuestra muestra se encuentran: atrofia encefálica difusa en un caso, en otro disgenesia de cuerpo calloso, menor desarrollo hemisferio izquierdo, alteraciones morfológicas periventriculares, en otro caso agenesia de cuerpo calloso y nódulos de heterotopia ventriculares, áreas de displasia cortical, frontal posterior, parietal y temporal derechas; en otro caso se encontró atrofia cortical con predominio fronto-temporal y megacisterna magna, en otro atrofia corticosubcortical, etc.

Los EEG fueron en ambos grupos mayoritariamente generalizados, siendo mayor el porcentaje en el grupo sin diagnóstico (79,1%), que en el grupo con diagnóstico (60%). En el grupo con resultado genético alterado, tras el patrón generalizado que es el predominante, se observan patrones de EEG focal y característico de forma más frecuente que en el grupo sin diagnóstico ($p = 0,132$). Como sucede en nuestra muestra, en la literatura no se encuentra que determinados patrones en el EEG se relacionen con encontrar pruebas genéticas alteradas. Con estos datos no se puede concluir que haya patrones de EEG patognomónicos de distintas variantes patogénicas¹⁵.

En cuanto a las pruebas genéticas realizadas previamente al panel/exoma, se había realizado un mayor número de pruebas en el grupo con resultado genético alterado ($2,60 \pm 1,35$), en comparación con el grupo sin diagnóstico, que se realizaron de media $1,67 \pm 1,46$ pruebas genéticas. En otras series estudiadas se ha visto que cada sujeto recibió previamente a llegar al diagnóstico numerosas pruebas, con un mínimo de hasta 24 pruebas⁴⁸. Esto puede estar relacionado con que en el grupo con resultados

alterados sean casos con mayor frecuencia de crisis, con fenotipo alterado y malformaciones asociadas; que parezcan cuadros más graves que hagan sospechar que pueda haber una variante patogénica genética causante y por ello se soliciten mayor número de pruebas genéticas. Es cierto que en nuestra muestra no se ha llegado a encontrar diferencias estadísticamente significativas, probablemente debido al tamaño muestral.

La media de edad al diagnóstico encontrada en nuestra muestra fue de 8.89 ± 5.24 años, siendo el paciente con la edad mínima de diagnóstico de 2,63 años y la máxima es de 18,30 años. Revisando la literatura se encuentra que en otros estudios donde se ha realizado exoma en EE, el paciente con mayor edad al diagnóstico fue de 16 años, algo menor que nuestro niño con mayor rango de edad⁴⁸.

6.2 VARIANTES PATOGÉNICAS ENCONTRADAS EN LOS CASOS CLÍNICOS

La gran cantidad de nuevos genes identificados como causas de EE ha revelado una heterogeneidad genética y fenotípica previamente desconocida. Ahora se entiende que variantes patogénicas en genes únicos son capaces de dar lugar a un amplio espectro de fenotipos; por el contrario, genes diferentes pueden causar el mismo síndrome epiléptico. Por tanto, el descubrimiento del gen debe ser seguido por una cuidadosa consideración del potencial espectro fenotípico⁴⁸.

A continuación, queremos destacar algunas peculiaridades de los casos en los que se ha llegado a un diagnóstico genético concreto.

En el **caso 1** se diagnostica mediante exoma dirigido la variante patogénica en heterocigosis en el gen *HNRNPU*, p.Glu122Lys; C.364G>A. El gen *HNRNPU* (OMIM * 602869) codifica la ribonucleoproteína U heterogénea nuclear que se expresa en el cerebro del feto y en el corazón, riñón, hígado, cerebro y cerebelo adultos⁴⁹. En la literatura aparecen reflejadas microdelecciones en la región 1q44 que abarca el gen *HNRNPU* que se han asociado con discapacidad intelectual (DI) y otras características clínicas, como convulsiones, anomalías del cuerpo calloso y microcefalia. Estudios recientes han revelado que las variantes heterocigóticas de *HNRNPU* dan como resultado una epilepsia de inicio a edad temprana y DI grave. Se identificó una variante patogénica de *novo* en el marco de lectura en *HNRNPU* en un niño de 5 años con retraso en el desarrollo asociado con características similares al síndrome de Rett, que incluyen movimientos estereotípicos de la mano y anomalías respiratorias con episodios de apnea e hiperpnea seguidos de caídas. También mostró un episodio de

encefalopatía aguda con convulsiones bifásicas y difusión tardíamente reducida seguida de hemiplejía y epilepsia intratable. Las características clínicas únicas y variables están relacionadas con la pérdida de función o haploinsuficiencia de *HNRNPU*⁵⁰.

En el estudio de Shimada S. et al (2018), recogen a 5 pacientes con variante patogénica en este gen, concluyendo que el fenotipo en individuos con variantes en *HNRNPU* se caracteriza por convulsiones de inicio temprano, DI severa, discapacidad grave del habla, hipotonía y sistema nervioso central (SNC), cardíaca y anomalías renales.

Al igual que lo encontrado en la literatura, nuestro caso inicia crisis epilépticas a temprana edad (6 meses) y presenta un importante retraso cognitivo. Por otro lado no presenta alteraciones en el fenotipo, no se encuentran alteraciones en la RM cerebral y tampoco presenta malformaciones a nivel cardíaco ni renal, aunque sí a nivel oftalmológico.

Caso 2 se diagnostica mediante exoma-trío la variante patogénica en *SCN1A* c.301C>T (p.Arg101Trp). La presencia de variantes patogénicas en *SCN1A* (que codifica la subunidad α1 del canal de sodio dependiente de voltaje), se asocia, con un patrón de herencia autosómico dominante, al síndrome de Dravet (MIM #607208), a la epilepsia generalizada tipo 2 (MIM #604403) y a la migraña hemipléjica familiar (MIM #609634).

Han surgido evidencias de las consecuencias de la disfunción de *SCN1A* en diferentes redes neuronales en todo el cerebro. Éstas apuntan hacia un modelo de canalopatía que causa las características neurológicas del síndrome de Dravet, que va más allá del daño puramente relacionado con las convulsiones⁵¹. De este modo, este sistema ya vulnerable puede ser susceptible a eventos secundarios agravantes como el estado epiléptico.

Los trastornos convulsivos relacionados con esta variante patogénica suelen heredarse de forma autosómica dominante⁵².

En cuanto al fenotipo relacionado con la variante patogénica, en el síndrome de Dravet las crisis suelen iniciarse a la edad de 4-15 meses, presentan discapacidad intelectual. La neuroimagen suele ser normal o presentar alteraciones inespecíficas.

Nuestro caso comienza a presentar crisis con 5 meses de edad, inicialmente presentó hemiconvulsión, posteriormente crisis generalizadas frecuentemente relacionadas con

fiebre. A su vez discapacidad intelectual. La RM cerebral muestra leve atrofia encefálica con adelgazamiento de sustancia blanca.

En cuanto al tratamiento, el modelo de canalopatía implica que el tratamiento farmacológico y la restauración de la neurotransmisión del ácido γ -aminobutírico alterado (GABA), podrían ayudar a prevenir las convulsiones, y a su vez podrían intervenir en las comorbilidades relacionadas con el síndrome⁵¹. Aspecto muy interesante de cara al manejo futuro de estos pacientes.

En este caso se llegó al diagnóstico mediante el exoma, algo inusual en esta variante patogénica, ya que el cuadro clínico suele ser lo suficientemente característico para solicitar directamente la genética dirigida mediante sospecha clínica.

En el **caso 3** se diagnosticó la variante patogénica en el gen *PIGN* c.283C>T; p.(Arg95Trp) y c.1783_1795del; p, mediante exoma trío. La presencia de variantes patogénicas en *PIGN* se asocia, con un patrón de herencia autosómico recesivo al síndrome de múltiples anomalías hipotonía y convulsiones (MIM #614080). Si bien, se ha descrito en la literatura individuos que presentan epilepsia sin otros signos clínicos adicionales.

PIGN es uno de los más de 20 genes de la familia de fosfatidilinositol implicados en la biosíntesis de glicosilfosfatidilinositol (GPI). GPI actúa como un anclaje de superficie celular para más de 150 proteínas que están involucradas en la interacción célula-célula, transducción de señales, adhesión celular y defensa del huésped; los defectos en esta familia se clasifican como defectos de anclaje GPI^{53,54}.

Los defectos en la ruta biosintética del ancla del glucosilfosfatidilinositol humano están asociados con deficiencias heredadas de glicosilfosfatidilinositol (GPI) caracterizadas por una amplia gama de fenotipos que se han asociado con epilepsia⁵⁵, e incluyen anomalías congénitas múltiples, rasgos dismórficos, hipotonía, retraso global del desarrollo. Dentro de las anomalías congénitas se pueden encontrar: malformaciones en manos, pies, corazón, sistema gastrointestinal, sistema genitourinario y cerebro.



Figura 6.1: Paciente 4 a los 4 meses de edad muestran características distintivas de la cara, las manos y los pies. (A, B) Observe las características faciales toscas, el estrechamiento bitemporal, el puente nasal deprimido, la micrognatia. (C) La falange distal ausente del quinto dígito y las falanges distales hipoplásicas del 2.º al 4.º dígito en la vista de PA de la mano derecha. (D-F) Falanges hipoplásica 2º a 4º distal, anoniquia de los 2º y 3º dígitos y uñas hipoplásicas del pulgar, 4º y 5º dígitos (mano izquierda) y todas las uñas de los pies⁵⁶.

Nuestro caso, como se expone en la literatura, presenta malformaciones, en este caso a nivel cardiaco (CIA-OS y leve estenosis pulmonar) y un fenotipo peculiar con raíz nasal estrecha, ojos rasgados. También presenta crisis generalizadas y discapacidad intelectual. Nuestro paciente presenta características dismórficas que concuerdan con lo descrito en la literatura, si bien informes recientes relacionan variantes no truncantes con un fenotipo más leve, destacando la importancia de los estudios funcionales en la interpretación de variantes de secuencia.

En el **caso 4** se ha detectado la variante patogénica c.596 T>C en heterocigosis en el gen *GNAO1*, que origina el cambio aminoacídico p.L199P. Se trata de un cambio de *novo*, no presente en ninguno de los progenitores.

Las variantes patogénicas heterocigotas de *novo* en el gen *GNAO1*, que codifica la subunidad Gαo de las proteínas G, son la causa de un trastorno grave del neurodesarrollo, con convulsiones infantiles tempranas, disfunción cognitiva profunda y, ocasionalmente, trastorno del movimiento (encefalopatía epiléptica infantil temprana-17)^{57,58}. La variante p.L199P no ha sido descrita previamente, según búsqueda bibliográfica. Diversos programas de predicción indican un probable papel deletéreo de la variante encontrada. Varias de las variantes patogénicas de *novo* en

GNAO1 fueron también de cambio de sentido y estudios funcionales apoyaron su probable patogenicidad⁵⁹. $\text{G}\alpha_\circ$, codificado por GNAO1 (MIM #139311), es extremadamente abundante en el tejido cerebral, donde puede constituir hasta aproximadamente el 0,5% de la proteína de la membrana, lo que sugiere funciones importantes en la función cerebral^{59,60}.

Existe un estudio en el que se evalúan 4 pacientes afectados de EE con variante patogénica en el gen GNAO1⁵⁹, los cuatro individuos mostraron discapacidad intelectual grave y retraso en el desarrollo motor; lo que muestra que la aberración de $\text{G}\alpha_\circ$ afecta el desarrollo intelectual y motor. Además, los cuatro individuos mostraron EE, y dos de ellos mostraron movimientos involuntarios. Variantes patogénicas en este gen dan como resultado desarrollo neurológico pobre en todos los pacientes descritos hasta ahora. Las imágenes de RM pueden revelar distintas anomalías cerebrales, como atrofia cerebral, mielinización retardada y/o cuerpo calloso adelgazado⁵⁷.

Nuestra paciente comenzó con crisis en periodo neonatal (a los 3 días de vida). Presentó a su vez discinesia oral y lingual. Un estudio previo de RM cerebral, realizado a los 18 días de vida, mostró signos compatibles con atrofia cerebral leve, como sucede en otros casos de variante patogénica en gen GNAO1.

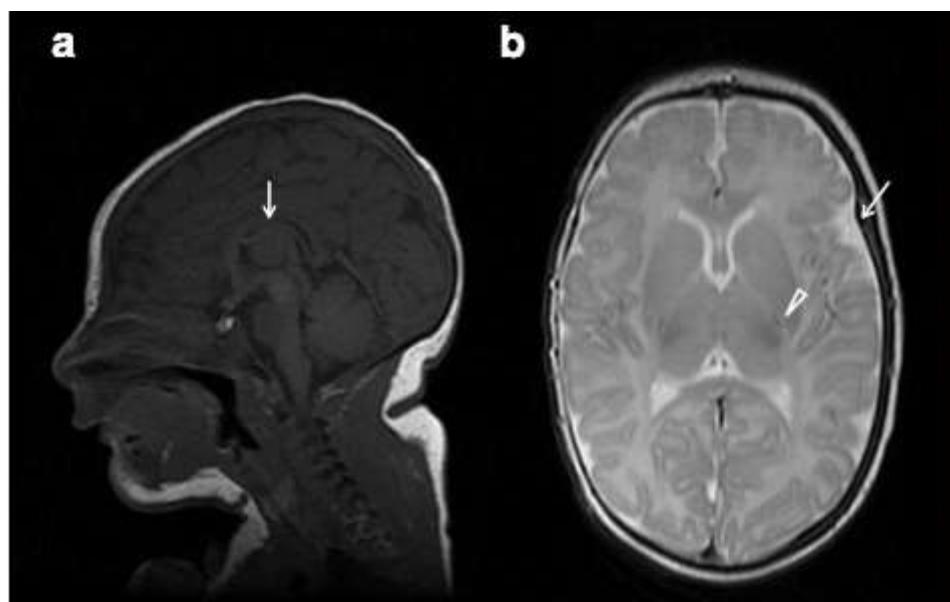


Figura 6.2: Resonancia magnética cerebral a los 18 días. Vista Sagital T1WI que muestra el adelgazamiento del cuerpo calloso (flecha), con predominio anterior y cierto grado de reducción del volumen del lóbulo frontal⁵⁷.

Dado que la inhibición de los canales de calcio es una consecuencia bien conocida de $\text{G}\alpha_\circ$, que es mediada por la señalización inducida por norepinefrina, es posible que las convulsiones epilépticas asociadas con variantes patogénicas en el gen GNAO1

puedan beneficiarse de moduladores de los canales de calcio⁶¹. Por ejemplo, la pregabalina y la gabapentina actúan como bloqueadores selectivos de los canales de calcio. El topiramato es un FAE que actúa modulando los canales de calcio⁶². En nuestro caso, las convulsiones persistieron sin cambios a pesar del uso de múltiples FAES, aunque con el tiempo se obtuvo una ligera mejoría en la frecuencia de las convulsiones con carbamazepina, topiramato y clobazam.

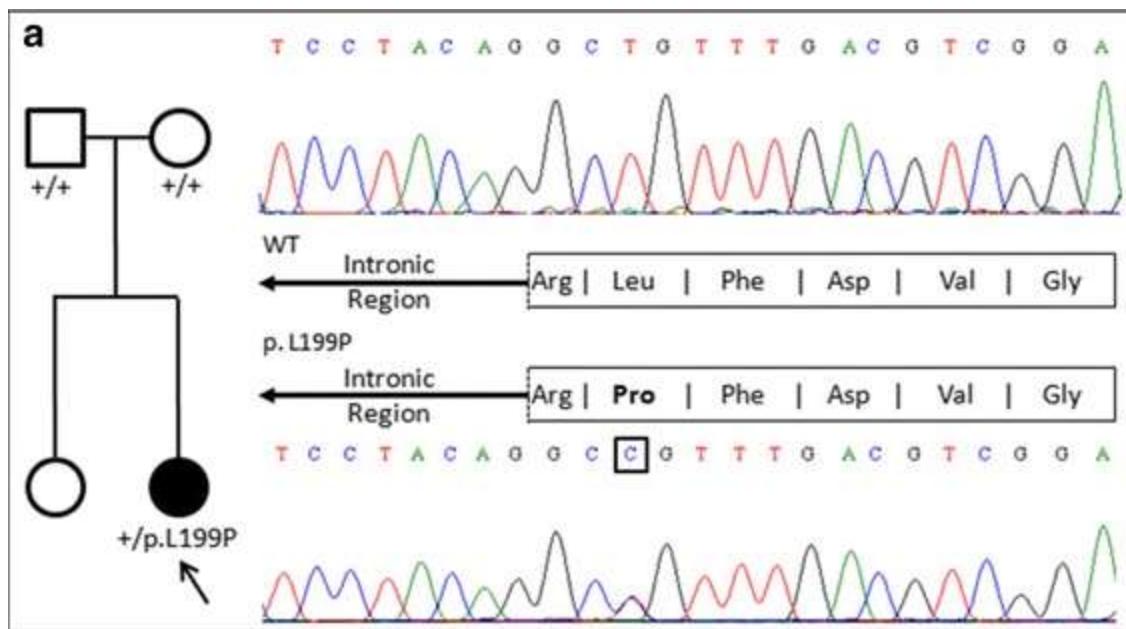


Figura 6.3: Validación de la variante patogénica identificada mediante PCR y secuenciación de Sanger: Los electroferogramas muestran la secuencia de tipo salvaje en los progenitores (arriba) y la novedosa variante *GNAO1* c.596 T> C en el probando (abajo), produciendo el cambio de aminoácido p.Leu199Pro⁵⁷.

Caso 5, mediante exoma trío se llega a la variante patogénica: c.1295_1296del, p.(Ile432Lysfs*2) en el gen *KMT5B*.

Se han identificado, en la literatura reciente, variantes patogénicas de novo, mayoritariamente de pérdida de función en el gen *KMT5B* en pacientes con fenotipos que incluyen retraso psicomotor, epilepsia y en alguno de los casos macrocefalia.

Variantes en heterocigosis en gen *KMT5B* asocian de leve a moderada discapacidad intelectual, alguno con pobre o ausente lenguaje, alteraciones de la psicomotricidad, algunos autismo, problemas de atención y frecuentes crisis febriles. Variables rasgos dismórficos, criotorquidía, alteraciones de los pies, trastornos del sueño y algunos talla

alta. Puede haber alteraciones en la neuroimagen, incluidos dilatación de ventrículos. Stessman et al. (2017)⁶³ informaron de 4 pacientes no relacionados y revisaron 3 pacientes previamente informados por Lossifov et al. (2014)⁶⁴ con una variedad de trastornos cognitivos del neurodesarrollo asociados con variantes heterocigóticas en el gen *KMT5B*. Los pacientes tenían edades comprendidas entre 5 y 19 años. Todos presentaban retraso en el desarrollo con discapacidad intelectual leve a moderada, 3 de 4 (75%) hablaban mal o no hablaban, y 3 de 5 (60%) presentaban retraso en el desarrollo motor o dificultades de coordinación. Cinco de 6 (83%) tenían trastorno del espectro autista y 4 tenían anomalías conductuales, incluidos problemas de atención. Tres pacientes tenían antecedentes de convulsiones febres. Todos presentaban características variables e inespecíficas adicionales, incluyendo rasgos faciales dismórficos, criotorquidia, deformidades del pie y dificultades para dormir, y algunos tenían una tendencia hacia la estatura alta. Dos tenían anomalías cerebrales leves en la RM, incluidos los ventrículos dilatados. Un paciente tenía inmunodeficiencia combinada variable. En nuestro caso se encuentran alteraciones pertenecientes al espectro fenotípico de la variante patogénica descrito en la literatura; macrocefalia, discapacidad intelectual, a su vez presenta dilatación ventricular en la RM cerebral.

Caso 6, se llega a la variante patogénica c.1118A>G (p.Gln373Arg) *de novo* en el gen *TBR1*, mediante exoma trío. Esta variante patogénica se ha asociado a discapacidad intelectual y autismo. Además tiene una variante patogénica truncante, en el gen *SIRT5* (c.28C>T, p.Arg10*), que se ha asociado a epilepsia y su función parece estar relacionada con la regulación del metabolismo mitocondrial. *TBR1* es un gen implicado en el neurodesarrollo, participa en la diferenciación y migración de las neuronas, interactuando con varios genes y proteínas para regular el desarrollo cortical, específicamente dentro de la capa VI del córtex humano en desarrollo de seis capas. Es necesario para el normal desarrollo del cerebro.

El *knock-out* de *Tbr1* causa defectos de la laminación cortical, conexiones de axones y diferenciación específica de capa⁶⁵.

Nuestro paciente presenta discapacidad intelectual y TEA, en consonancia con lo descrito en la bibliografía en relación con la variante patogénica en *TBR1*.

En el **caso 7** se encuentra, mediante exoma trío, una variante patogénica en heterocigosis tipo cambio de sentido con cambio de nucleótido c.1531C>T cambio de aminoácido p(Arg511Trp) en el gen *RHOBTB2*. *RHOBTB2* codifica⁶⁶ una Rho GTPasa atípica que es un adaptador específico del sustrato o es un sustrato para el complejo de ubiquitina ligasa basada en Cullin-3 (CUL3).

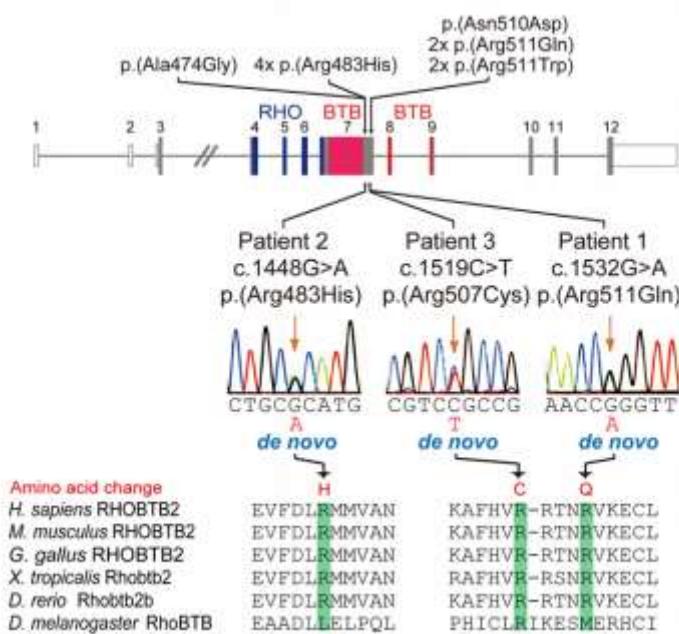


Figura 6.4: Variantes de *novo* en *RHOBTB2* y sus impactos sobre la estabilidad de la proteína y la unión con CUL3⁶⁶.

Mediante la secuenciación completa del exoma, en el siguiente estudio se identifican tres variantes *de novo* de *RHOBTB2* en tres pacientes con EE. Curiosamente, los tres pacientes mostraron encefalopatía aguda (estado febril epiléptico), con imágenes de RM que revelan la inflamación del hemisferio o difusión reducida en diversas regiones cerebrales. Las características clínicas de estos niños eran: convulsiones iniciadas a los 3 meses de edad en pacientes 1 y 2, mientras que el paciente 3 desarrolló convulsiones a los 15 meses. Los tres pacientes mostraron encefalopatía aguda, que se repitió en dos de ellos. Las imágenes de la RM cerebral mostraron edema o reducción de la difusión de varias regiones del cerebro durante la encefalopatía aguda en los tres pacientes, y subsecuente atrofia cerebral en los pacientes 1 y 2. EEG de los tres pacientes mostraron puntas o polipuntas, pero no patrones específicos. El retraso en el desarrollo fue severo en los pacientes 1 y 2 (con atrofia cerebral) y moderado en el paciente 3. Microcefalia postnatal fue reconocido en pacientes 1 y 2, y trastornos del movimiento fueron observados esporádicamente o actualmente en todos los pacientes. Estos datos indican que la EE relacionada con el gen *RHOBTB2* no se ajusta a los síndromes electroclínicos existentes, y que la encefalopatía aguda puede ser una característica común en EE relacionado con *RHOBTB2*. También se puede extraer que las variantes de *RHOBTB2* son una causa genética rara de EE, en la cual la encefalopatía podría ser una característica.

También Straub et al (2018) reporta esta variante patogénica de *novo* de pérdida de sentido en *RHOBTB2* en 10 pacientes afectados de EE⁶⁷. En este caso se observó el estado epiléptico en cinco de los 10 pacientes lo que indica como en el estudio previo, que la encefalopatía aguda podría ser una característica relativamente específica en EEs relacionados con *RHOBTB2*.

En nuestro caso, el paciente en la RM cerebral únicamente destacaban sutiles alteraciones de señal en secuencia FLAIR en sustancia blanca periventricular adyacente a astas temporales, con lóbulos temporales de morfología y tamaño normal; sin mostrar inflamación ni disminución de la señal *flair*. Recientemente nuestro paciente ha presentado un episodio de encefalopatía aguda en contexto febril con edema cerebral localizado y hemiparesia; hallazgo que aparece descrito en la literatura como característico de EE *RHOBTB2* y del que se recuperó favorablemente tras recibir tratamiento corticoideo. Por otra parte, este paciente inició crisis a una edad temprana (3 meses) y presenta a su vez retraso del desarrollo.

El caso 8 presenta una variante patogénica c.316G>A (p.Ala106Thr) de *novo* en el gen *GABRG2*, diagnosticada mediante panel de epilepsia.

El gen del receptor gamma-aminobutírico A (*GABRG2*) codifica la proteína GABR γ 2, que ha sido implicada en la susceptibilidad a la epilepsia^{68,69}. Variantes patogénicas en *GABRG2* se han asociado con ataques febriles simples y con síndromes de epilepsia genética, incluyendo epilepsia de ausencia infantil, epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus, y síndrome de Dravet o epilepsia mioclónica grave en la infancia. La heterogeneidad fenotípica de la epilepsia asociada con variantes patogénicas del gen *GABRG2* puede estar relacionada con la reducción de la función del canal del receptor GABA y la supresión negativa dominante diferencial, así como con la toxicidad relacionada con el metabolismo de las proteínas subunitarias mutantes resultantes de cada subunidad γ 2 mutante, además de diferentes antecedentes genéticos⁷⁰. Parece que una estrategia terapéutica combinada para mejorar el GABA, la función del canal receptor y la eliminación de la producción de proteína mutante usando ARNi como objetivo de los transcritos mutantes o moléculas pequeñas para promover la eliminación de la proteína mutante podría ser un enfoque útil para el tratamiento de la EE asociada a *GABRG2*.

El fenotipo descrito en la literatura parece relacionar esta variante patogénica con trastornos epilépticos autosómicos dominantes, acompañados de trastorno del movimiento y deterioro de la visión^{71,72}.

Nuestro caso presenta epilepsia refractaria con fotosensibilidad, como aparece descrita en la literatura en relación con la variante patogénica presentada. También presenta alteración del movimiento, ya que padece tetraparesia espástica. El fenotipo del paciente concuerda con lo encontrado en la bibliografía sobre la EE por *GABRG2*.

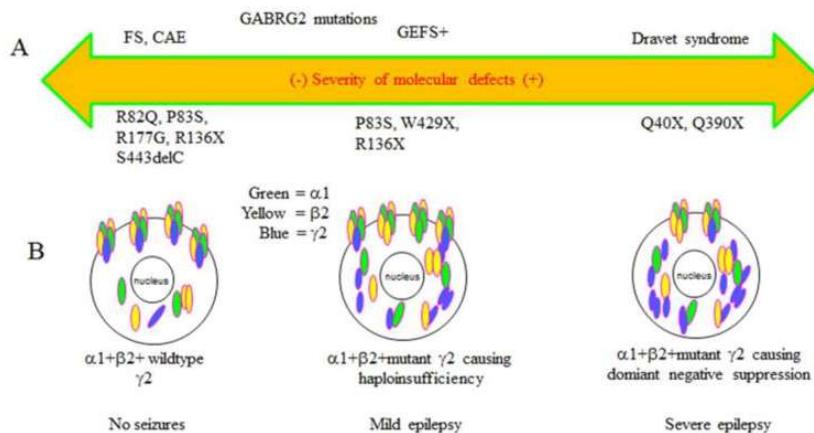


Figura 6.5: Esquema que muestra las variantes patogénicas del gen *GABRG2* y la gravedad de los síndromes epilépticos⁷⁰.

En el **caso 9** se encuentra una variante patogénica *de novo* en el gen *STXBP1* c.1651C>T (p.Arg551Cys), mediante panel de epilepsia. Dicha variante patogénica provoca una sustitución de aminoácido de Arg a Cys.

La encefalopatía *STXBP1* se caracteriza por una encefalopatía de inicio temprano con epilepsia. La edad media de inicio de las convulsiones es de seis semanas (rango de 1 día a 13 meses). Los tipos convulsivos pueden incluir espasmos infantiles, convulsiones tónico-clónicas, clónicas o tónicas generalizadas y ataques mioclónicos, focales, atónicos y de ausencia.

El EEG se caracteriza por actividad epiléptica focal, supresión de ráfagas, hipsarritmia u ondas generalizadas. Otros hallazgos pueden incluir tono anormal, trastornos del movimiento (especialmente ataxia y distonía) y trastornos del comportamiento (incluido TEA). Las dificultades de alimentación son comunes⁷³.

Debido a que los fenotipos de muchas EE genéticas se superponen, la mayoría de los niños con EE *STXBP1* se diagnostican mediante un panel multigen o CMA o secuenciación genómica completa.

En un primer trabajo de 2012⁷⁴ se analizaron 175 trío de exomas (pacientes y sus padres) con la intención de identificar factores de riesgo de sufrir desórdenes del espectro autista. Casi la mitad de estos pacientes (46.3%) eran portadores de una variante de cambio de sentido generada de *novo*, y las proteínas que codifican los genes afectados mostraban un elevado grado de conectividad entre ellas y ya habían sido relacionadas previamente con autismo, en otros trabajos. La proteína *STXBP1* se encontraba entre estas proteínas y la relacionaban también con epilepsia y retraso mental. Indican, además, que el modo de herencia es autosómico dominante. Finalmente, entre las variantes patogénicas detectadas se encontraba la alteración p.Arg551Cys que muestra este paciente, si bien no se dan más detalles sobre los síntomas mostrados. En otro trabajo de 2013, analizan⁷⁵ un paciente que presentaba exactamente la misma variante patogénica. Realizan una descripción exhaustiva de la evolución de la enfermedad, así como los tratamientos y pruebas que se realizaron al paciente a lo largo de sus primeros años de vida. El paciente empezó a sufrir convulsiones epilépticas a los 3 meses, y a edad más avanzada mostró una profunda discapacidad intelectual. Entre los síntomas también se destacaba la presencia de respiración irregular.

Nuestro paciente parece que concuerda con lo descrito en la literatura sobre la EE *STXBP1*. Ya que comenzó a presentar crisis generalizadas a una temprana edad (con 2 meses de vida), en el EEG se objetivaron hipsarritmias y presenta discapacidad intelectual. Es cierto que no presenta alteraciones respiratorias, como se refleja en la bibliografía revisada.

Por último, el **caso 10** se diagnosticó mediante panel de genes de epilepsia de EE asociada al gen *CHD2*, con la variante patogénica c.3734+2_3734+5delinsCA. La familia de proteínas de unión a ADN de *cromodomain helicasa* (CHD) son remodeladores de cromatina dependientes de ATP que contribuyen a la reorganización de la estructura de la cromatina y a la deposición de las variantes de histona necesarias para regular la expresión génica, éstas desempeñan un papel importante en el neurodesarrollo. Las variantes patógenas en *CHD2* se asocian con encefalopatía epiléptica del desarrollo, sin embargo, se sabe muy poco sobre cómo estas variantes contribuyen a este trastorno⁷⁶. *CHD2* podría ser responsable de un fenotipo caracterizado por epilepsia generalizada de inicio en la infancia, discapacidad intelectual y fotosensibilidad, que podría superponerse con los síndromes MAE, Lennox-Gastaut, Dravet y Jeavons⁷⁷.

Nuestro caso comenzó con crisis de tipo tónico-clónicas a los 36 meses de edad, presenta retraso cognitivo, pero no presenta fotosensibilidad; como aparece relacionada en la literatura con esta variante patogénica.

6.3 RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL PANEL Y EXOMA

En este momento existe un amplio campo de trabajo que demuestra que la aplicación de secuenciación de alto rendimiento (HTS) a través de paneles multigenes específicos o la secuenciación de exoma (ES) mejora el rendimiento diagnóstico en EE en un 20%-40% ^{78,79,80}. Está descrito que la HTS tiene el potencial de minimizar esta "odisea" que supone el diagnóstico para estos pacientes, sus familias y los sanitarios, que en numerosas ocasiones se prolonga en el tiempo y a su vez es invasiva y costosa. Hay numerosos estudios que afirman que realizar HTS implica rentabilidad diagnóstica ^{80,81,82} y coste eficiencia; si bien es cierto que todavía faltan más datos sólidos para confirmar la superioridad del HTS a nivel de rendimiento diagnóstico y eficiencia económica sobre el método diagnóstico tradicional. Se han publicado artículos sobre secuenciación de exoma a nivel clínico, algunos estiman un rendimiento diagnóstico del exoma de un 25-30%^{24,26}. En un estudio realizado en 2018 analizan el rendimiento del panel de EE en pacientes con EE de etiología sin filiar. El rendimiento de las variantes patógenas fue del 28,5%, el más alto en EE de inicio temprano (<3 meses), incluyendo el síndrome de Ohtahara y el más bajo en la epilepsia generalizada. El coste promedio de la evaluación etiológica fue menor con el uso temprano del panel de EE en comparación con el enfoque de investigación tradicional (5.990 dólares australianos (AUD) frente a 13.069 AUD, p=0,02) entre los pacientes con variantes patógenas identificadas. En este estudio concluyen que la prueba MPS dirigida es una investigación exhaustiva y económica que permite el diagnóstico genético temprano en niños con EE, a su vez refieren que la selección clínica cuidadosa de pacientes con EE de inicio temprano pueden maximizar el rendimiento de las pruebas de panel EE⁴⁴.

En otro artículo publicado este mismo año el rendimiento diagnóstico fue a su vez mayor para la secuenciación del exoma (16/32, 50%) que siguiendo el diagnóstico estándar (2/32, 6,2%). La vía de secuenciación del exoma-trío fue costo-efectiva en comparación con la vía de diagnóstico estándar con un ahorro de costes de \$5.236 (intervalos de confianza del 95% \$2.482; \$9.784) por diagnóstico adicional; la ruta estándar cuesta aproximadamente 10 veces más por diagnóstico. El análisis de

sensibilidad demostró que la mayoría de la secuenciación del exoma comercial y los paneles multigénicos estudiados también eran rentables ^{14,83}.

De nuestra muestra estudiada (n=34), se solicitó el exoma-trío en 27 casos (79,4%), de estos se llegó a un diagnóstico etiológico definitivo en 7 casos. El rendimiento diagnóstico del exoma en esta muestra fue de un 25,9%. El resultado es concordante con lo hallado en la literatura (entre 20-40%). En el caso del panel de epilepsia en la misma muestra (n=34), se solicitó en 18 casos (52,9%), de los cuales se llegó a un diagnóstico etiológico en 3 casos. El rendimiento diagnóstico del panel es de un 16,6 %, algo menor que lo que se refleja en los estudios citados previamente (11,1% vs 28,5%). No hemos analizado coste-efectividad del panel de epilepsia-exoma, sería interesante para próximos estudios.

Los estudios genéticos en las EE infantiles tienen un balance general muy positivo porque suprimen la angustia y la ansiedad de las familias que derivan de no tener un diagnóstico etiológico definido, evitan realizar pruebas complementarias innecesarias, ahorran tiempo y dinero al obtener un diagnóstico precoz dirigido, son importantes en algunos casos para conocer mejor la evolución natural de la epilepsia y del neurodesarrollo en un determinado síndrome epiléptico, pueden ayudar en algunos genes concretos a seleccionar mejor el tratamiento y permiten realizar un asesoramiento genético familiar ⁸⁴.

7. LIMITACIONES

Entre las limitaciones del estudio es preciso mencionar el reducido tamaño muestral (n=34), que, si bien permite alcanzar los objetivos principales, posiblemente dificulte llegar a encontrar diferencias que sean estadísticamente significativas.

Por otra parte, al tratarse de un estudio realizado de forma retrospectiva, existen parámetros interesantes para investigar, que no se han podido añadir durante la realización del estudio.

8. CONCLUSIONES

1. El rendimiento de la técnica diagnóstica de panel de epilepsia en nuestra muestra de niños afectados de encefalopatía epiléptica ha sido del 11,1%. En el caso del exoma-trío se ha obtenido un diagnóstico etiológico en un 25,9 % de los casos.
2. La presencia de malformaciones congénitas parece que puede estar relacionada con un aumento de la probabilidad de presentar un resultado en el test genético en 2,5 veces.
3. El presentar un fenotipo alterado parece que puede incrementar en 1,5 veces la probabilidad de llegar a un diagnóstico etiológico cerrado.
4. Los pacientes que comienzan a presentar a una edad más temprana crisis epilépticas, parece que tienen mayor probabilidad de presentar alteraciones patogénicas en el panel de epilepsia o exoma.
5. Para interpretar adecuadamente el resultado del panel de epilepsia y del exoma-trío y conseguir así disminuir los resultados dudosos es necesaria una estrecha colaboración entre clínicos y genetistas.
6. No hemos encontrado factores que se asocien con detectar con mayor probabilidad resultados genéticos patológicos que aporten un diagnóstico etiológico cerrado, que sean suficientes para preseleccionar a los candidatos ideales para estos test.
7. Actualmente el estudio genético mediante la técnica de exoma-trío constituye una prueba de primera línea en el estudio de los pacientes afectados de EE, que debe ofrecerse a todos los individuos sin diagnóstico etiológico establecido.

9. FUTURAS INVESTIGACIONES

La prueba genética de exoma-trío se ha comenzado a solicitar de forma sistemática para el diagnóstico etiológico de EE en las consultas de Neuropediatría hace relativamente poco tiempo. Sería interesante recoger a todos los pacientes a los que se solicite esta prueba genética de forma prospectiva. Con un seguimiento en el tiempo se podrían valorar diversos aspectos que puedan estar relacionados con el rendimiento diagnóstico del exoma-trío.

El objetivo sería comprobar a cuántos diagnósticos etiológicos cerrados nuevos se llega mediante el exoma-trío en una muestra más amplia de pacientes afectados de EE y estudiar su evolución y seguimiento en consultas tras haber llegado al diagnóstico etiológico. Podría así valorarse el rendimiento de estas pruebas genéticas y sus hallazgos para estos pacientes; a la hora de seguimiento en diversas consultas, tratamientos utilizados, etc. Por otra parte, también se podría analizar si tras llegar al diagnóstico etiológico se diagnostican patologías ligadas o consecuencia de la variante patogénica genética hallada.

Puede ser interesante comprobar la utilidad que puede tener o está teniendo este rápido avance en el campo de la genética y la manera nueva de diagnosticar en Neuropediatría. Y por supuesto valorar los beneficios que aporta a estos pacientes y sus familias.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Engel J Jr. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia*. 2006; 47: 1558-68.
2. García-Peñas JJ. Repercusión neurocognitiva de las descargas epileptiformes interictales en el niño. *Rev Neurol*. 2011; 52 (Supl 1): S43-52.
3. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010 Apr; 51(4):676-85.
4. Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Iinuma K, Uematsu M, Tsuchiya S. Neuroepidemiology of West syndrome and early infantile epileptic encephalopathy in Miyagi Prefecture, Japan. *Epilepsy Res*. 2009 Dec;87(2-3):299-301.
5. Beghi E, Frigeni B, Beghi M, De Compadri P, Garattini L. A review of the costs of managing childhood epilepsy. *Pharmacoeconomics*. 2005;23(1):27-45.
6. Khan S, Al Baradie R. Epileptic encephalopathies: an overview. *Epilepsy ResTreat*. 2012;2012:403592.
7. Engel J Jr. International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001Jun;42(6):796-803.
8. Scheffer I., Berkovic S., Capovilla G., Connolly MB., French J., Guilhoto L., et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017; 58(4):512–521.
9. McTague A, Howell KB, Cross JH, Kurian MA, Scheffer IE. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *Lancet Neurol*. 2016 Mar;15(3):304-16.
10. Kamien BA, Cardamone M, Lawson JA, Sachdev R. A genetic diagnostic approach to infantile epileptic encephalopathies. *J Clin Neurosci*. 2012 Jul;19(7):934-41.
11. Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D, Hewson S, Callen D, Donner EJ, et al. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia*. 2015 May;56(5):707-16.

12. Osborne, J. P., Lux, A. L., Edwards, S. W., Hancock, E., Johnson, A. L., Kennedy, C. R., ... O'Callaghan, F. J. (2010). The underlying etiology of infantile spasms (West syndrome): Information from the United Kingdom Infantile Spasms Study (UKISS) on contemporary causes and their classification. *Epilepsia*, 51, 2168– 2174.
13. Poulat AL, Lesca G, Sanlaville D, Blanchard G, Lion-François L, Rougeot C, et al. A proposed diagnostic approach for infantile spasms based on a spectrum of variable aetiology. *Eur J Paediatr Neurol*. 2014 Mar;18(2):176-82.
14. Palmer EE, Schofield D, Shrestha R, Kandula T, Macintosh R, Lawson JA, et al. Integrating exome sequencing into a diagnostic pathway for epileptic encephalopathy: Evidence of clinical utility and cost effectiveness. *Mol Genet Genomic Med*. 2018 Mar;6(2):186-199.
15. Gürsoy S, Erçal D. Diagnostic Approach to Genetic Causes of Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *J Child Neurol*. 2016 Mar;31(4):523-32.
16. Mastrangelo M. Novel Genes of Early-Onset Epileptic Encephalopathies: From Genotype to Phenotypes. *Pediatr Neurol*. 2015 Aug;53(2):119-29.
17. Palmer EE, Sachdev R, Kandula T, Macintosh R, Kirk E, Bye A. Genetics of Epileptic Encephalopathies. Chichester: John Wiley & Sons. 2017.
18. Daryl AS, Brendan L. Implicaciones genéticas en la práctica pediátrica. En: Kliegman RM, Stanton B, St. Geme JW. *Tratado de Pediatría*. 20ª ed. Barcelona: Elsevier, 2016. 614-617.
19. Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D, Majnemer A, et al. Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2003 Feb 11;60(3):367-80.
20. Patel J, Mercimek-Mahmutoglu S. Epileptic Encephalopathy in Childhood: A Stepwise Approach for Identification of Underlying Genetic Causes. *Indian J Pediatr*. 2016 Oct; 83(10):1164-74.
21. Sisodiya SM. Genetic screening and diagnosis in epilepsy? *Curr Opin Neurol*. 2015 Apr;28(2):136-42.
22. Miramart-Gallart MD, López-Pisón J. Estudios genéticos. FAPap [Internet]. 2017; 10 (3). Disponible en: <https://fapap.es/>

23. Daryl AS, Brendan L. Métodos genéticos para el estudio de las enfermedades raras y no diagnosticadas. En: Kliegman RM, Stanton B, St. Geme JW. Tratado de Pediatría. 20^a ed. Barcelona: Elsevier, 2016. 659-663.
24. Vissers LELM, van Nimwegen KJM, Schieving JH, Kamsteeg EJ, Kleefstra T, YntemaHG, et al. A clinical utility study of exomesequencing versus conventional genetic testing in pediatric neurology. *Genet Med.* 2017 Sep;19(9):1055-1063.
25. Monroe GR, Frederix GW, Savelberg SM, de Vries TI, Duran KJ, van der Smagt JJ, et al. Effectiveness of whole-exome sequencing and costs of the traditional diagnostic trajectory in children with intellectual disability. *Genet Med.* 2016 Sep;18(9):949-56.
26. Valencia CA, Husami A, Holle J, Johnson JA, Qian Y, Mathur A, et al. Clinical Impact and Cost-Effectiveness of Whole ExomeSequencing as a Diagnostic Tool: A Pediatric Center's Experience. *Front Pediatr.* 2015 Aug 3;3:67.
27. Holmes GL, Lenck-Santini PP. Role of interictal epileptiform abnormalities in cognitive impairment. *Epilepsy Behav.* 2006 May;8(3):504-15.
28. National Institute for Health and Care Excellence: Clinical Guidelines [Internet]. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2003-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11822/>.
29. Kossoff E. The Fat Is in the Fire: Ketogenic Diet for Refractory Status Epilepticus. *Epilepsy Currents.* 2011;11(3):88-89.
30. Arzimanoglou A, French J, Blume WT, Cross JH, Ernst JP, Feucht M, et al. Lennox-Gastaut syndrome: a consensus approach on diagnosis, assessment, management, and trial methodology. *Lancet Neurol.* 2009 Jan;8(1):82-93.
31. Caballero Pérez V, López Pisón FJ, Miramar Gallart MD, González Álvarez A, García Jiménez MC, García Iñiguez JP, et al. Phenotype in patients with intellectual disability and pathological results in array CGH. *Neurologia.* 2017 Nov - Dec;32(9):568-578.
32. Reif PS, Tsai MH, Helbig I, Rosenow F, Klein KM. Precision medicine in genetic epilepsies: break of dawn? *Expert Rev Neurother.* 2017 Apr;17(4):381-392.
33. EpiPM Consortium. A roadmap for precision medicine in the epilepsies. *Lancet Neurol.* 2015 Dec;14(12):1219-28.

34. Van Karnebeek CD, Stockler-Ipsiroglu S, Jaggumantri S, Assmann B, Baxter P, Buhas D, Bok LA, et al. Lysine-Restricted Diet as Adjunct Therapy for Pyridoxine-Dependent Epilepsy: The PDE Consortium Consensus Recommendations. *JIMD Rep.* 2014;15:1-11.
35. Berkovic SF. Genetics of Epilepsy in Clinical Practice. *Epilepsy Currents*. 2015;15(4):192-196.
36. World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research involving human subjects. In: World Medical Association. URL: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.html>
37. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guideline for Good Clinical Practice. In: ICH. URL: <http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>
38. Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. BOE núm. 33, de 7-2-2004, pp. 5429-5443.
39. Boletín Oficial del Estado. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. BOE núm. 159, de 4-7-2007, pp. 28826-28848.
40. Douglass LM, Heeren TC, Stafstrom CE, DeBassio W, Allred EN, Leviton A, et al. Cumulative Incidence of Seizures and Epilepsy in Ten-Year-Old Children Born Before 28 Weeks' Gestation. *Pediatr Neurol*. 2017 Aug;73:13-19.
41. Alshahawy AK, Darwish AH, Elsaied Shalaby S, Mawlania W. Prevalence of idiopathic epilepsy among school children in Gharbia Governorate, Egypt. *Brain Dev*. 2018 Apr;40(4):278-286.
42. Hamdan FF, Myers CT, Cossette P, y col. Tasa alta de variantes patogénicas recurrentes de novo en encefalopatías epilépticas y del desarrollo. *American Journal of Human Genetics* . 2017; 101 (5): 664-685.
43. Kothur K, Holman K, Farnsworth E, Ho G, Lorentzos M, Troedson Cert al. Diagnostic yield of targeted massively parallel sequencing in children with epileptic encephalopathy. *Seizure*. 2018 Jul; 59:132-140.
44. Veeramah KR, Johnstone L, Karafet TM, Wolf D, Sprissler R, Salogiannis Jet al. Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathies. *Epilepsia*. 2013 Jul;54(7):1270-81.

45. Hamdan FF, Myers CT, Cossette P, y col. Tasa alta de variantes patogénicas recurrentes *de novo* en encefalopatías epilépticas y del desarrollo. *American Journal of Human Genetics*. 2017; 101 (5): 664-685.
46. Pisani F, Percesepe A, Spagnoli C. Genetic diagnosis in neonatal-onset epilepsies: Back to the future. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018 May;22(3):354-357.
47. Ostrander BEP, Butterfield RJ, Pedersen BS, Farrell AJ, Layer RM, Ward A, et al. Whole-genome analysis for effective clinical diagnosis and gene discovery in early infantile epileptic encephalopathy. *NPJ Genom Med*. 2018 Aug 13;3:22.
48. Nieh SE, Sherr EH. Epileptic encephalopathies: new genes and new pathways. *Neurotherapeutics*. 2014 Oct;11(4):796-806.
49. Bramswig NC, Lüdecke HJ, Hamdan FF, Altmüller J, Beleggia F, Elcioglu NH, et al. Heterozygous HNRNPU variants cause early onset epilepsy and severe intellectual disability. *Hum Genet*. 2017 Jul;136(7):821-834.
50. Shimada S, Oguni H, Otani Y, Nishikawa A, Ito S, Eto K, et al. An episode of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion followed by hemiplegia and intractable epilepsy observed in a patient with a novel frameshift mutation in HNRNPU. *Brain Dev*. 2018 Oct;40(9):813-818.
51. Brunklaus A, Zuberi SM. Dravet syndrome--from epileptic encephalopathy to channelopathy. *Epilepsia*. 2014 Jul;55(7):979-84.
52. Miller IO, Sotero de Menezes MA. SCN1A-Related Seizure Disorders. 2007 Nov 29 [updated 2014 May 15]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1318/>
53. Maeda Y, Kinoshita T. Structural remodeling, trafficking and functions of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins. *Prog Lipid Res*. 2011 Oct;50(4):411-24.
54. Fujita M, Jigami Y. Lipid remodeling of GPI-anchored proteins and its function. *Biochim Biophys Acta*. 2008 Mar;1780(3):410-20.
55. Thiffault I, Zuccarelli B, Welsh H, Yuan X, Farrow E, Zellmer L, et al. Hypotonia and intellectual disability without dysmorphic features in a patient with PIGN-related disease. *BMC Med Genet*. 2017 Nov 2;18(1):124.

56. Fleming L, Lemmon M, Beck N, Johnson M, Mu W, Murdock D, et al. Genotype-phenotype correlation of congenital anomalies in multiple congenital anomalies hypotonia seizures syndrome (MCAHS1)/PIGN-related epilepsy. *Am J Med Genet A*. 2016 Jan;170A(1):77-86.
57. Marcé-Grau A, Dalton J, López-Pisón J, García-Jiménez MC, Monge-Galindo, Cuenca-León E, et al. GNAO1 encephalopathy: further delineation of a severe neurodevelopmental syndrome affecting females. *Orphanet J Rare Dis*. 2016 Apr 12;11:38.
58. Gerald B, Ramsey K, Belnap N, Szelinger S, Siniard AL, Balak C, et al. Neonatal epileptic encephalopathy caused by de novo GNAO1 mutation misdiagnosed as atypical Rett syndrome: Cautions in interpretation of genomic test results. *Semin Pediatr Neurol*. 2018 Jul;26:28-32.
59. Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, et al. De Novo mutations in GNAO1, encoding a G_αo subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet*. 2013 Sep 5;93(3):496-505.
60. Huff R.M, Axton J.M, Neer E.J. Physical and immunological characterization of a guanine nucleotide-binding protein purified from bovine cerebral cortex. *J. Biol. Chem*. 1985;260:10864–10871.
61. Sills G.J. The mechanisms of action of gabapentin and pregabalin. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2006;6:108–113.
62. Stefani A, Spadoni F, Giacomini P, Lavaroni F, Bernardi G. The effects of gabapentin on different ligand- and voltage-gated currents in isolated cortical neurons. *Epilepsy Res*. 2001;43:239–248.
63. Stessman HA, Xiong B, Coe BP, Wang T, Hoekzema K, Fenckova M, et al. Targeted sequencing identifies 91 neurodevelopmental-disorder risk genes with autism and developmental-disability biases. *Nat Genet*. 2017 Apr;49(4):515-526.
64. Iossifov I, O'Roak BJ, Sanders SJ, Ronemus M, Krumm N, Levy D, et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature*. 2014 Nov 13;515(7526):216-21.
65. Hevner RF, Shi L, Justice N, Hsueh Y, Sheng M, Smiga S, et al. Tbr1 regulates differentiation of the preplate and layer 6. *Neuron*. 2001 Feb;29(2):353-66.

66. Belal H, Nakashima M, Matsumoto H, et al. De novo variants in RHOBTB2, an atypical Rho GTPase gene, cause epileptic encephalopathy. *Human Mutation*. 2018;39:1070–1075.
67. Straub J, Konrad EDH, Grüner J, Toutain A, Bok LA, Cho MT, et al. Missense Variants in RHOBTB2 Cause a Developmental and Epileptic Encephalopathy in Humans, and Altered Levels Cause Neurological Defects in *Drosophila*. *Am J Hum Genet*. 2018 Jan 4;102(1):44-57.
68. Haerian BS, Baum L. GABRG2 rs211037 polymorphism and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Seizure*. 2013 Jan;22(1):53-8.
69. Ishii A, Kanaumi T, Sohda M, Misumi Y, Zhang B, Kakinuma N, et al. Association of nonsense mutation in GABRG2 with abnormal trafficking of GABA_A receptors in severe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2014 Mar;108(3):420-32.
70. Kang JQ, Macdonald RL. Molecular Pathogenic Basis for GABRG2 Mutations Associated With a Spectrum of Epilepsy Syndromes, From Generalized Absence Epilepsy to Dravet Syndrome. *JAMA Neurol*. 2016 Aug 1;73(8):1009-16.
71. Orenstein N, Goldberg-Stern H, Straussberg R, Bazak L, Weisz Hubshman M, Kropach N, et al. A de novo GABRA2 missense mutation in severe early-onset epileptic encephalopathy with a choreiform movement disorder. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018 May;22(3):516-524.
72. Shen D, Hernandez CC, Shen W, Hu N, Poduri A, Shiedley B, et al. De novo GABRG2 mutations associated with epileptic encephalopathies. *Brain*. 2017 Jan;140(1):49-67.
73. Khaikin Y, Mercimek-Mahmutoglu S. *STXBP1* Encephalopathy with Epilepsy. 2016 Dec 1. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018.
74. Vatta M, Tennison MB, Aylsworth AS, Turcott CM, Guerra MP, Eng CM, et al. Una nueva variante patogénica *STXBP1* provoca convulsiones focales con inicio neonatal. *J Child Neurol*. 2012; 27 : 811-4.
75. Epi4K Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project, Allen AS, Berkovic SF, Cossette P, Delanty N, et al. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature*. 2013 Sep 12;501(7466):217-21.

76. Lamar KJ, Carvill GL. Chromatin Remodeling Proteins in Epilepsy: Lessons From *CHD2*-Associated Epilepsy. *Front Mol Neurosci*. 2018 Jun 15;11:208.
77. Trivisano M, Striano P, Sartorelli J, Giordano L, Traverso M, Accorsi P, et al. *CHD2* mutations are a rare cause of generalized epilepsy with myoclonic-ataxic seizures. *Epilepsy Behav*. 2015 Oct;51:53-6.
78. Chambers C, Jansen LA, Dhamija R. Review of Commercially Available Epilepsy Genetic Panels. *J Genet Couns*. 2016 Apr;25(2):213-7.
79. EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium. De novo mutations in synaptic transmission genes including DNM1 cause epileptic encephalopathies. *Am J Hum Genet*. 2014 Oct 2;95(4):360-70.
80. Helbig KL, Farwell Hagman KD, Shinde DN, Mroske C, Powis Z, Li S, et al. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genet Med*. 2016 Sep;18(9):898-905.
81. Kwong AK, Ho AC, Fung CW, Wong VC. Analysis of mutations in 7 genes associated with neuronal excitability and synaptic transmission in a cohort of children with non-syndromic infantile epileptic encephalopathy. *PLoS One*. 2015 May 7; 10(5):e0126446.
82. Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I, et al. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012 Aug;53(8):1387-98.
83. Ream MA, Patel AD. Obtaining genetic testing in pediatric epilepsy. *Epilepsia*. 2015 Oct; 56 (10): 1505-14.
84. Garcia-Penas JJ, Jimenez-Legido M. Infantile epileptic encephalopathies: what matters is genetics. *Rev Neurol*. 2017 May 17;64(s03):S65-S69.