

Leucodistrofia megalencefálica con quistes subcorticales: la importancia del diagnóstico temprano

Antonio Bravo-Oro^{1*}, Jorge G. Reyes-Vaca², María F. Noriega-Reyes³ y Carmen Esmer⁴

¹Departamento de Neurología Pediátrica, Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto; ²Departamento de Radiología, Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto; ³Carrera de Medicina, Escuela de Medicina, Universidad Cuauhtémoc; ⁴Departamento de Genética, Escuela de Medicina, Universidad Cuauhtémoc. San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

Resumen

Introducción: La leucoencefalopatía megalencefálica con quistes subcorticales es una leucodistrofia poco frecuente, asociada con mutaciones en los genes MLC1 y GlialCAM. La forma clásica se caracteriza por macrocefalia, neurodesarrollo temprano normal o con retraso seguido por un periodo de pérdida lenta de habilidades motoras, con ataxia cerebelosa y espasticidad; algunos pacientes desarrollan trastornos del movimiento y crisis convulsivas. La resonancia magnética muestra afección difusa generalizada de la sustancia blanca con edema y quistes subcorticales. **Caso clínico:** Se presenta el caso de dos hermanas de 6 y 10 años con historia de retraso psicomotor y macrocefalia, hijas de padres consanguíneos. La mayor inició con crisis convulsivas a los 4 años y espasticidad sin pérdida de la marcha autónoma; la menor presentó un cuadro clínico similar. La resonancia magnética mostró una alteración difusa de la sustancia blanca y quistes subcorticales en los lóbulos temporales. El electroencefalograma detectó actividad epileptiforme focal. Se logró el control de las crisis convulsivas al iniciar el tratamiento con carbamazepina. Por secuenciación, se encontró una variante homocigota del gen MLC1 en el exón 3: c.255T>G (p.Cys85Trp). **Conclusiones:** Las leucodistrofias son enfermedades raras que representan un desafío para su diagnóstico. Los hallazgos clínicos, radiológicos y moleculares permiten la certeza del diagnóstico, la dirección adecuada de las intervenciones y el ajuste al pronóstico de cada una. La mutación c.255T>G fue descrita previamente en pacientes sudamericanos, lo que sugiere que podría tratarse de una variante específica de poblaciones latinas.

Palabras clave: Leucodistrofia. Leucoencefalopatía megalencefálica. Quistes subcorticales. MLC1.

Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: the importance of early diagnosis

Abstract

Background: Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts is a rare type of leukodystrophy associated with mutations in the MLC1 and GlialCAM genes. The classic form is characterized by macrocephaly, early or delayed normal neurodevelopment followed by a period of slow motor skill loss, with cerebellar ataxia and spasticity; some patients develop movement disorders and seizures. Magnetic resonance imaging shows widespread diffuse white matter involvement with

Correspondencia:

*Antonio Bravo Oro

E-mail: antonio.bravo@uaslp.mx

1665-1146/© 2021 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 09-04-2021

Fecha de aceptación: 05-08-2021

DOI: 10.24875/BMHIM.21000069

Disponible en internet: 21-04-2022

Bol Med Hosp Infant Mex. 2022;79(2):129-134

www.bmhim.com

edema and subcortical cysts. Case report: We describe the case of two sisters aged 6 and 10 years, consanguineous parents, with a history of psychomotor delay and macrocephaly. The older sister presented with seizures at the age of 4 years and spasticity without loss of gait; the younger sister had a similar clinical picture. Magnetic resonance imaging showed diffuse alteration of the white matter and subcortical cysts in the temporal lobes. Electroencephalogram detected focal epileptiform activity. Seizure control was achieved upon initiation of carbamazepine treatment. By sequencing, a homozygous variant of the MLC1 gene was found in exon 3: c.255T>G (p.Cys85Trp). Conclusions: Leukodystrophies are rare diseases that represent a diagnostic challenge. Clinical, radiological, and molecular findings allow diagnostic certainty, the appropriate direction of interventions, and adjustment to the prognosis of each entity. The c.255T>G mutation was previously described in a South American patients, suggesting that it is a specific variant to Latin populations.

Keywords: Leukodystrophy. Megalencephalic leukoencephalopathy. Subcortical cysts. MLC1.

Introducción

Aunque la leucodistrofia es una enfermedad que puede presentarse a cualquier edad, se presenta con mayor frecuencia durante la infancia y la adolescencia. La incidencia de la leucodistrofia es de 1 en 7000 a 50,000 nacidos vivos. En 1995, van der Knaap et al.¹ describieron por primera vez la leucoencefalopatía megalencefálica con quistes subcorticales (MLC, *megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts*). Se trata de un trastorno neurológico raro de incidencia desconocida, aunque se han reportado casos en casi todas las áreas geográficas. Exhibe mayor frecuencia en áreas con alta consanguinidad, como los países mediterráneos, la India, Turquía y China¹⁻³.

La presentación clínica abarca desde el retraso del desarrollo psicomotor hasta un cuadro de regresión neurológica. En la mayoría de los casos, los pacientes inicián con síntomas neurológicos, principalmente motores, con hipotonía o espasticidad, alteraciones en la marcha y caídas frecuentes. Algunas leucodistrofias pueden manifestar distonía o ataxia, crisis convulsivas, trastornos de conducta, hiperactividad, falla escolar, sordera y alteraciones en el perímetro cefálico, principalmente macrocefalia. Otras manifestaciones no neurológicas incluyen alteraciones oculares, como cataratas, retinitis pigmentosa y mancha roja cereza, problemas endocrinológicos (como hipotiroidismo o falla suprarrenal), problemas dentales (como hipodontia), anomalías esqueléticas, organomegalias y alteraciones dérmicas⁴.

La manifestación más común en la forma clásica de MLC es la macrocefalia; esta característica, en la mayoría de los casos, se observa desde el nacimiento o antes del primer año de vida. El neurodesarrollo temprano puede ser normal o con retraso leve, seguido por un periodo de pérdida paulatina de habilidades motoras, con ataxia cerebelosa, espasticidad y problemas de deglución; la mayoría de los afectados pierden la marcha en la adolescencia. El deterioro cognitivo

ocurre más tarde que la afección motora. No es frecuente, pero se pueden observar problemas de lenguaje, conducta y bajo rendimiento escolar. Es común que los pacientes desarrollen epilepsia y, ocasionalmente, estado epiléptico; algunos presentan trastornos del movimiento, como distonía, atetosis y tics. Los traumatismos craneoencefálicos leves pueden provocar un deterioro transitorio en algunos pacientes, con crisis convulsivas, pérdida prolongada del estado de alerta y deterioro motor con una recuperación gradual⁵⁻⁸.

Un segundo fenotipo menos frecuente se caracteriza por una evolución benigna, donde la macrocefalia está presente desde el nacimiento, aunque frecuentemente ocurre durante el primer año de vida. En algunos pacientes el perímetro cefálico puede normalizarse. El neurodesarrollo es normal o con ligera discapacidad intelectual y algunos signos de autismo, hipotonía y torpeza motora, sin datos de regresión. Algunos pacientes presentan crisis convulsivas, cuya intensidad varía desde muy leve hasta el estado epiléptico⁹.

La resonancia magnética (RM) de cráneo es útil en el abordaje de las leucodistrofias y fundamental en el caso de la MLC. La sustancia blanca hemisférica cerebral muestra una alteración difusa con edema leve; la sustancia blanca central, incluyendo el cuerpo calloso, la cápsula interna y el tallo, se encuentran mejor preservadas, aunque no son completamente normales. La sustancia blanca cerebelosa, en general, muestra una intensidad de señal levemente incrementada, sin edema. Los quistes subcorticales, casi invariablemente, se ubican en la región temporal anterior y, con frecuencia, en la frontoparietal. Estos quistes pueden aumentar de tamaño y en número; incluso, en algunos individuos se vuelven de gran volumen, ocupando gran parte de la sustancia blanca frontoparietal. Con el tiempo, el edema de la sustancia blanca disminuye, al igual que la hiperintensidad, pero se observa atrofia cerebral. Las imágenes ponderadas por difusión revelan una mayor difusividad de la sustancia blanca anormal^{10,11}.

En este trabajo se describe el caso de una familia de padres consanguíneos con dos hijas afectadas por una mutación en *MLC1*, que fue descrita anteriormente en una familia de Sudamérica, lo que destaca la importancia de realizar estudios diagnósticos en forma temprana.

Caso clínico

Padres primos hermanos. El primer producto, de sexo femenino, sin antecedentes perinatales ni neonatales, sostén cefálico a los 9 meses, sedestación a los 14 meses, deambulación a los 24 meses, bisílabos a los 12 meses, control de esfínteres a los 4 años. Fue valorada por primera vez a los 4 años por caídas repetidas de su propia altura y crisis convulsivas focales motoras, por lo que inició tratamiento con fenitoína. A la exploración física se observó lo siguiente: perímetro cefálico de 54 cm (p98), pobre desarrollo de lenguaje expresivo, receptivo normal, pares craneales, fondo de ojo y fuerza normales, espasticidad Ashworth 1, hiperreflexia, clonus agotable bilateral, Babinsky y sucedáneos presentes, sensibilidad normal, sin signos cerebelosos ni marcha atáxica, pero con amplia base de sustentación. Electroencefalograma epileptogénico en la región frontal izquierda. La RM a los 6 años mostró desmielinización de toda la sustancia blanca; en las regiones temporales se identificaron quistes subcorticales y adelgazamiento de la corteza cerebral (Figs. 1 y 2). La última evaluación se realizó a los 10 años y se observó un perímetro cefálico de 55 cm (p98), sin crisis convulsivas, aún con marcha autónoma, pero con espasticidad de grado 2 de Ashworth en los miembros inferiores y de grado 1 en los miembros superiores, y mejoría leve en lenguaje expresivo.

La hermana menor fue valorada a los 2 años de edad. Sin antecedentes perinatales ni neonatales, sostén cefálico a los 8 meses, sedestación a los 12 meses, deambulación a los 22 meses, primeros bisílabos a los 12 meses y retraso importante en el lenguaje expresivo. A la exploración física se encontró perímetro cefálico de 51 cm (p98), adecuado lenguaje receptivo, pares craneales normales, fondo de ojo normal, fuerza 5/5, tono normal, reflejos de estiramiento +/+/+++, sin Babinsky ni signos cerebelosos. A los 3 años de edad inició con crisis convulsivas focales; a la exploración se encontró perímetro cefálico de 52 cm (p98), espasticidad Ashworth 1 en los miembros inferiores, marcha autónoma, mejoría en el lenguaje expresivo, electroencefalograma epileptogénico focal y RM con las mismas características que su hermana, por lo que se inició tratamiento con carbamazepina. La última evaluación se realizó a los 6 años de edad: se encontró libre de

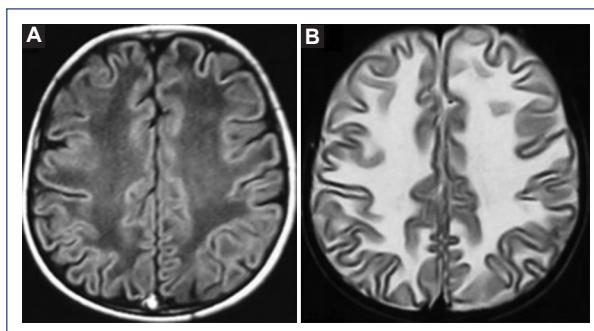


Figura 1. Resonancia magnética de cráneo en secuencias T1 y T2. **A:** imagen axial potenciada en T1 *spin-echo*. **B:** imagen axial potenciada en T2 *fast spin-echo*, del encéfalo, a nivel de los centros semiovales frontales. Se observa una importante desmielinización de la materia blanca en forma generalizada y adelgazamiento de la corteza cerebral.

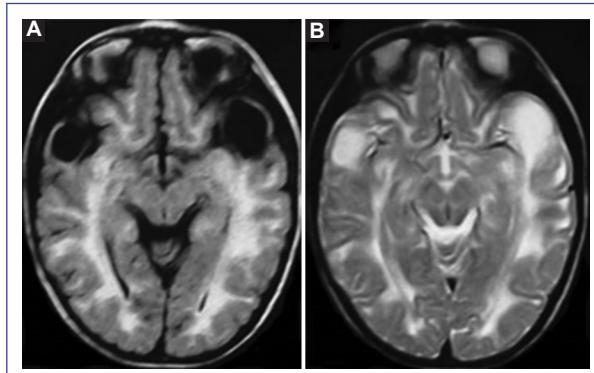


Figura 2. Resonancia magnética. Imágenes en FLAIR T2 y T2 *fast spin-echo*. **A:** imagen axial potenciada en densidad protónica o FLAIR T2. **B:** imagen axial potenciada en T2 *fast spin-echo* a nivel del mesencéfalo y los lóbulos temporooccipitales que muestra importante desmielinización de la materia blanca bilateralmente, excepto en el mesencéfalo. Se observan lesiones quísticas temporales y adelgazamiento de la corteza cerebral.

crisis, macrocefalia, incremento de la espasticidad en los miembros inferiores sin pérdida de la marcha, problemas de lenguaje y retraso en el aprendizaje.

De acuerdo con los hallazgos en la RM, se realizó un estudio molecular en busca de mutaciones en el gen *MLC* en las dos pacientes. Se reportó una mutación ya descrita en el exón 3: c.255T>G (p.Cys85Trp) (Fig. 3).

Discusión

El reconocimiento temprano de las enfermedades de la sustancia blanca representa un desafío para el pediatra y

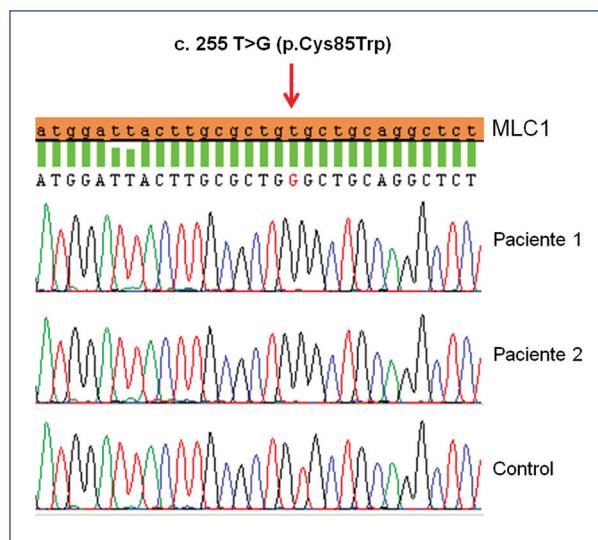


Figura 3. Secuenciación del gen *MLC*. En el exón 3 se identificó la presencia de guanina en lugar de timina en el residuo 255 de la secuencia original.

el neurólogo pediatra. Una vez que se sospecha una leucodistrofia, la RM es esencial para el diagnóstico diferencial. Por ejemplo, en la enfermedad de Alexander, las alteraciones son de predominio frontal, captan gadolinio y la degeneración quística es rara. En la enfermedad de Canavan, típicamente se ven afectados los tálamos y el globo pálido, algo no observado en la MLC; no es habitual la formación de quistes en la sustancia blanca y en la espectroscopía hay elevación de N-acetil aspartato. En los pacientes con deficiencia de laminina alfa-2, la afección de la sustancia blanca se asemeja a lo observado en la MLC, pero sin quistes subcorticales; en el cuadro clínico predominan las manifestaciones de distrofia muscular congénita, principalmente debilidad e hipotonía, algo no característico en la MLC. Otro diagnóstico por considerar es la gangliosidosis-GM2, en la que predomina la afección de los núcleos de la base y los tálamos¹.

En conjunto con el genetista, el abordaje se vuelve esencial y se puede confirmar con la secuenciación única de *MLC1*, aprovechando la ventaja de que este gen forma parte de diversos paneles genéticos, como el de la leucodistrofia, cuando el intento diagnóstico parte del hallazgo de imagen con anormalidad en la sustancia blanca, o de paneles de sobrecrecimiento, cuando parte de descartar causas genéticas de macrocefalia, acelerando el momento diagnóstico. La detección temprana asegura el asesoramiento genético para las familias y permite prevenir la ocurrencia de casos mediante el diagnóstico prenatal, la preimplantación y la detección de portadores sanos.

La MLC se ha clasificado en tres tipos: MLC1 (#604004), por mutaciones en el gen *MLC1* localizado en el cromosoma 22q13.33; MLC2A (#613925), por mutaciones en el gen *GlialCAM* localizado en el cromosoma 11q24.2 (estas dos formas tienen un patrón de herencia autosómico recesivo); y MLC2B (#613926), que se asocia con un patrón de herencia autosómico dominante por mutación en *GlialCAM*. El 75% de los casos se asocian con variantes patogénicas en *MLC1* y el 25% en *HEPACAM*; el 5% podrían explicarse por un tercer gen^{1,12,13}.

El gen *MLC1* (OMIM) abarca 12 exones y codifica una proteína de 377 aminoácidos con ocho dominios transmembrana. Se expresa mayormente en la membrana de los astrocitos del cerebelo, el tracto olfatorio, el tallo cerebral y el tálamo; su expresión es baja en la corteza cerebral, el estriado y el hipocampo. El segundo gen involucrado en este padecimiento codifica la proteína de adhesión celular GlialCAM, altamente expresada en el hígado y en el sistema nervioso central, en concreto en las neuronas y las células gliales, donde se une a *MLC1*. También se conoce como *HEPACAM*, ya que originalmente se encontró en el carcinoma hepatocelular¹⁴⁻¹⁷. Ambas proteínas interactúan como moduladores funcionales de la homeostasis del agua y de diferentes iones, incluyendo el canal de cloro 2 (CLC-2), la Na,K-ATPasa, el canal de potasio Kir4.1, el canal permeable de calcio TRPV4, el canal de agua AQP4, las conexinas 30 y 43, la ATPasa vacuolar, la bomba de protones reguladora de la acidez, el complejo distrofina-glucoproteína, la sintrofina, la distrobrevina, la caveolina, la zónula *occludens* 1 (ZO-1) y el canal aniónico regulado por volumen (VRAC), lo que llevó a clasificar a la MLC como la primera leucodistrofia producida por una canalopatía cerebral¹⁷⁻¹⁹.

Los estudios con ratones *knock-out* *Mlc1* y *GlialCAM* han mostrado una deficiencia en la liberación de cloruro y otros aniones orgánicos, como taurina, glutamato e, incluso, adenosín trifosfato, lo que conduce al edema crónico en el astrocito que precede a la vacuolización de mielina en un proceso mediado por la retención de agua²⁰, que se manifiesta como quistes.

La anormalidad en la absorción y la dispersión del potasio extracelular conduce a la deficiencia de este ion, provocando actividad epileptiforme por un umbral convulsivo alterado^{21,22}. Lo anterior explica que el 70% de los pacientes presenten crisis convulsivas antes de los 20 años y el 15-20% desarrollen un evento de estado epiléptico^{1,22}. Las crisis convulsivas son de fácil control en la mayoría de los casos⁹. En ambas pacientes descritas en este reporte se ha logrado el control completo de las crisis con monoterapia con carbamazepina. Este

fármaco tiende a estabilizar a los pacientes con canalopatías dependientes de potasio. Una mejor comprensión de la forma en que MLC1/GliaCAM influyen en los procesos de transducción de señales podría ayudar a identificar fármacos que mejoren los síntomas de los pacientes con MLC.

Se han descrito alrededor de 90 variantes en *MLC1*. En China se ha descrito la tasa más alta de mutaciones nuevas (50-70%), en comparación con la población turca (38%) y la India (5%)²³⁻²⁵. Existen también mutaciones recurrentes, como la c.136delT en Irán. En India se ha reportado la c.135_136insC en alrededor del 73% de los pacientes, y en China se ha reportado una mutación en c.772-1G>C en el 23.7%^{23,24}. Tsujino et al.²⁶ informaron que c.278C>T es una mutación común en el 85.7% de los pacientes japoneses con MLC, y también ha sido previamente descrita en pacientes italianos, turcos y finlandeses. En familias judías libanesas predomina la mutación c.176G>A, y en el este de la India predomina la variante c.135dupC²⁶⁻²⁸. Resulta interesante que la mutación c.255T>C, encontrada en ambas pacientes aquí estudiadas, fue descrita por primera vez por Leegwater et al.²⁸ en un par de hermanos procedentes de Sudamérica. La consanguinidad, el efecto fundador y la existencia de puntos calientes en la secuencia de los genes son algunas de las explicaciones para la alta frecuencia de algunas mutaciones en ciertas áreas geográficas. La consanguinidad es un factor de riesgo importante, documentado en nueve de las 11 familias que se estudiaron inicialmente en el camino hacia la identificación del gen causal de la MLC1²⁹.

La terapia génica con vectores virales comienza a ser una posibilidad de tratamiento, como se ha intentado en otros trastornos cerebrales^{5,30}, aunque se debe tener especial cuidado para controlar los niveles de expresión de *MLC1*, ya que su elevada expresión podría ser perjudicial. Otra opción es el uso de chaperones farmacológicos para restaurar la expresión de *MLC1* en la membrana plasmática, tal como se ha probado en otras enfermedades, como la fibrosis quística³¹. Sin embargo, al no existir una opción de este tipo a la fecha, el tratamiento, por lo pronto, se basa en la terapia física, de lenguaje, educación especial, uso de antiepilepticos y ciertas medidas para evitar factores como la fiebre y los traumas craneales.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han

realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado.

Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Financiamiento

Ninguno.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Enrico Bertini por su ayuda con la secuenciación del gen.

Bibliografía

1. van der Knaap MS, Abbink TEM, Min R. Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, editores. GeneReviews®. Seattle, WA: University of Washington, Seattle; 1993-2022. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
2. van der Knaap MS, Barth PG, Stroink H, van Nieuwenhuizen O, Arts WF, Hoogenraad F, et al. Leukoencephalopathy with swelling and a discrepantly mild clinical course in eight children. Ann Neurol. 1995;37:324-34.
3. Singhal BS, Gursahani RD, Udani VP, Biniwale AA. Megalencephalic leukodystrophy in an Asian Indian ethnic group. Pediatr Neurol. 1996;14:291-6.
4. Parikh S, Bernard G, Leventer RJ, van der Knaap MS, van Hove J, Pizzino A, et al.; GLIA Consortium. A clinical approach to the diagnosis of patients with leukodystrophies and genetic leukoencephalopathies. Mol Genet Metab. 2015;114:501-15.
5. van der Knaap MS, Boor I, Estévez R. Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: chronic white matter oedema due to a defect in brain ion and water homeostasis. Lancet Neurol. 2012;11:973-85.
6. Sugura C, Shiota M, Maegaki Y, Yoshida K, Koeda T, Kitahara T, et al. Late-onset neuropsychological symptoms in a Japanese patient with megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. Neuroepidemiics. 2006;37:286-90.
7. Yalçınkaya C, Yüksel A, Comu S, Kılıç G, Cokar O, Dervent A. Epilepsy in vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. Seizure. 2003;12:388-96.
8. Bugiani M, Moroni I, Bizzì A, Nardocci N, Bettecken T, Gärtner J, et al. Consciousness disturbances in megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. Neuroepidemiics. 2003;34:211-4.
9. López-Hernández T, Ridder MC, Montolio M, Capdevila-Nortes X, Polder E, Sirisi S, et al. Mutant GlialCAM causes megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts, benign familial macrocephaly, and macrocephaly with retardation and autism. Am J Hum Genet. 2011;88:422-32.
10. van der Voorn JP, Poulwels PJ, Hart AA, Serrarens J, Willemsen MA, Kremer HP, et al. Childhood white matter disorders: quantitative MR imaging and spectroscopy. Radiology. 2006;241:510-7.
11. Itoh N, Maeda M, Naito Y, Narita Y, Kuzuhara S. An adult case of megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts with S93L mutation in *MLC1* gene: a case report and diffusion MRI. Eur Neurol. 2006;56:243-5.

12. Hamilton EMC, Tekturk P, Cialdella F, van Rappard DF, Wolf NI, Yalcinkaya C, et al.; MLC Research Group. Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: characterization of disease variants. *Neurology*. 2018;90:e1395-403.
13. Bosch A, Estévez R. Megalencephalic leukoencephalopathy: insights into pathophysiology and perspectives for therapy. *Front Cell Neurosci*. 2021;14:627887.
14. Topcu M, Gartiox C, Ribierre F, Yalçinkaya C, Tokus E, Oztekin N, et al. Vacuoliting megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts, mapped to chromosome 22qtel. *Am J Hum Genet*. 2000;66:733-9.
15. Xie H, Wang J, Dhaunchak AS, Shang J, Kou L, Guo M, et al. Functional studies of MLC1 mutations in Chinese patients with megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *PLoS One*. 2012;7:e33087.
16. Hwang J, Vu HM, Kim MS, Lim HH. Plasma membrane localization of *MLC1* regulates cellular morphology and motility. *Mol Brain*. 2019;12:116.
17. Elorza-Vidal X, Xicoy-Espauella E, Pla-Casillanis A, Alonso-Gardón M, Gaitán-Peñas H, Engel-Pizcueta C, et al. Structural basis for the dominant or recessive character of GLIALCAM mutations found in leukodystrophies. *Hum Mol Genet*. 2020;29:1107-20.
18. Gilbert A, Vidal XE, Estevez R, Cohen-Salmon M, Boulay AC. Postnatal development of the astrocyte perivascular MLC1/GLIALCAM complex defines a temporal window for the gliovascular unit maturation. *Brain Struct Funct*. 2019;224:1267-78.
19. Bugiani M, Dubey M, Breur M, Postma NL, Dekker MP, Ter Braak T, et al. Megalencephalic leukoencephalopathy with cysts: the *Gialcam*-null mouse model. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4:450-65.
20. Duarri A, López de Heredia M, Capdevila-Nortes X, Ridder MC, Montolio M, López-Hernández T, et al. Knockdown of MLC1 in primary astrocytes causes cell vacuolation: a MLC disease cell model. *Neurobiol Dis*. 2011;43:228-38.
21. Dubey M, Brouwers E, Hamilton EMC, Stiedl O, Bugiani M, Koch H, et al. Seizures and disturbed brain potassium dynamics in the leukodystrophy megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Ann Neurol*. 2018;83:636-49.
22. Capdevila-Nortes X, López-Hernández T, Apaja PM, López de Heredia M, Sirisi S, Callejo G, et al. Insights into MLC pathogenesis: GLIALCAM is an MLC1 chaperone required for proper activation of volume-regulated anion currents. *Hum Mol Genet*. 2013;22:4405-16.
23. Wang J, Shang J, Wu Y, Gu Q, Xiong H, Ding C, et al. Identification of novel *MLC1* mutations in Chinese patients with megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC). *J Hum Genet*. 2011;56:138-42.
24. Shukla P, Gupta N, Ghosh M, Vasishth S, Gulati S, Balakrishnan P, et al. Molecular genetic studies in Indian patients with megalencephalic leukoencephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2011;44:450-8.
25. Yübaşioğlu A, Topcu M, Cetin Kocaeş Y, Ozgür M. Novel mutations of the *MLC1* gene in Turkish patients. *Eur J Med Genet*. 2011;54:281-3.
26. Tsujino S, Kanazawa N, Yoneyama H, Shimono M, Kawakami A, Hatanaka Y, et al. A common mutation and a novel mutation in Japanese patients with van der Knaap disease. *J Hum Genet*. 2003;48:605-8.
27. Montagna G, Teijido O, Eymard-Pierre E, Muraki K, Cohen B, Loizzo A, et al. Vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: functional studies of novel variants in *MLC1*. *Hum Mutat*. 2006;27:292.
28. Leegwater PA, Boor PK, Yuan BQ, van der Steen J, Visser A, König AA, et al. Identification of novel mutations in *MLC1* responsible for megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Hum Genet*. 2002;110:279-83.
29. Leegwater PA, Yuan BQ, van der Steen J, Mulders J, König AA, Boor PK, et al. Mutations of *MLC1* (KIAA0027), encoding a putative membrane protein, cause megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Am J Hum Genet*. 2001;68:831-8.
30. Verkman AS, Galleita LJ. Chloride channels as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2009;8:153-71.
31. Georgiou E, Sidiropoulou K, Richter J, Papaneophytou C, Sargiannidou I, Kagiava A, et al. Gene therapy targeting oligodendrocytes provides therapeutic benefit in a leukodystrophy model. *Brain*. 2017;140:599-616.