



Caro Socio,

negli ultimi venti anni sono stati fatti enormi progressi grazie allo sviluppo delle tecniche di genetica molecolare. Oltre alla continua scoperta di nuovi geni, si intravedono importanti prospettive attraverso il disegno di nuovi farmaci mirati a specifici meccanismi patogenetici oppure ad azione specifica su proteine mutate, fino ad una terapia genica sostitutiva nelle forme più gravi. Il percorso clinico diagnostico per lo studio della genetica dell'epilessia è molto articolato talora indaginoso e dispendioso in termini di tempo. Infatti le analisi genetiche attualmente a disposizione sono numerose ed includono sia indagini mirate, fondate su un preciso sospetto clinico ed in genere a basso costo, sia indagini "a tappeto" che si richiedono quando non si ha un preciso sospetto clinico e che hanno solitamente un costo più elevato. Inoltre, dal momento che i risultati talvolta possono avere significato non univoco o ancora sconosciuto, occorre delucidare i contenuti del referto alla famiglia e per garantire la corretta gestione delle indagini genetiche nei pazienti con sindromi epilettiche è indispensabile una stretta collaborazione tra il genetista e l'epilettologo. La Commissione Genetica ha recentemente presentato (Congresso LICE Roma 2016) un documento dal titolo 'Testing genetico nelle epilessie' che ha lo scopo di fornire un aggiornamento sulle epilessie genetiche e fornire elementi utili per indirizzare il percorso della diagnostica genetica in persone con epilessia. È auspicabile che tale prodotto venga costantemente aggiornato e che la sua applicabilità clinica venga accertata dall'utilizzo 'sul campo' di tutti coloro che gestiscono pazienti con epilessia. In tal senso, il contributo di tutti, con osservazioni e critiche, è benvenuto. Eventuali pareri o suggerimenti possono essere inviati a [bianchi.epigenet@gmail.com](mailto:bianchi.epigenet@gmail.com) e [strianop@gmail.com](mailto:strianop@gmail.com)

Grazie per l'attenzione e arrivederci al Policentrico 2017!

*Commissione Genetica Lega Italiana Contro l'Epilessia*

## **Testing genetico nelle epilessie**

*Commissione Genetica Lega Italiana Contro l'Epilessia [LICE] (Giugno 2016)*

*Col contributo di:* Amedeo Bianchi, Francesca Bisulli, Laura Canafoglia, Giuseppe Capovilla, Antonietta Coppola, Maurizio Elia, Silvana Franceschetti, Antonio Gambardella, Giuseppe Gobbi, Roberto Michelucci, Carlo Nobile, Tommaso Pippucci, Dario Pruna, Nicola Specchio, Pasquale Striano, Alessandra Terracciano, Marina Trivisano, Federico Zara

## ***Sommario***

**Introduzione**

**SEZIONE 1: Valutazione clinica**

**SEZIONE 2: Test genetici disponibili**

**SEZIONE 3: Epilessie candidate allo studio genetico**

**SEZIONE 4: Rilevanza clinica ed implicazioni terapeutiche**

**SEZIONE 5: Aspetti etici e costi**

**Conclusioni**

## **Introduzione**

Le epilessie costituiscono un gruppo eterogeneo di condizioni, con diverse caratteristiche cliniche e prognosi variabile. La componente genetica riveste un ruolo importante nella eziologia delle epilessie, non soltanto per quanto riguarda le forme considerate tipicamente ereditarie, come le Epilessie Generalizzate Idiopatiche, ma anche per quanto riguarda numerose forme focali. Nelle ultime due decadi, diversi difetti genici sono stati associati a varie sindromi epilettiche [Andrade & Minassian, 2007; Gobbi, 2014]. La maggior parte di queste mutazioni coinvolge le subunità di canali ionici neuronali che risultano in un' ipereccitabilità e/o riduzione dei meccanismi inibitori, provocando la ricorrenza delle crisi. Tuttavia, numerosi geni, codificanti per proteine diverse dai canali ionici, sono stati recentemente associati ad epilessie od encefalopatie epilettogene di vario tipo [Mantegazza, 2010]. Attualmente, si stima che le 'epilessie genetiche' interessino oltre lo 0.4% della popolazione generale e costituiscano oltre il 30% di tutte le epilessie [Gobbi et al., 2014; Striano et al., 2015]. Clinicamente tale gruppo include un insieme eterogeneo di sindromi e di pattern elettroencefalografici (EEG) correlati che possono avere origine focale o generalizzata. Da notare che solo una quota relativamente ridotta delle epilessie ha un' ereditarietà di tipo mendeliano, mentre per la maggior parte di esse è possibile ipotizzare una ereditarietà di tipo complesso [Nicita et al., 2010]. Le analisi genetiche attualmente a disposizione sono numerose ed includono sia indagini mirate, fondate su un preciso sospetto clinico, ed in genere a basso costo, sia indagini "a tappeto" che si richiedono quando non si ha un preciso sospetto clinico e che hanno solitamente un costo più elevato. Scopo di questo documento è fornire un aggiornamento sulle epilessie genetiche e fornire elementi utili per indirizzare il percorso della diagnostica genetica in persone con epilessia.

## **SEZIONE 1: Valutazione clinica**

Uno studio accurato del fenotipo clinico è il primo, fondamentale passo per indirizzare un paziente con sospetto di epilessia a probabile eziologia genetica verso l'iter diagnostico più appropriato. La valutazione del fenotipo consta di 5 tappe fondamentali: anamnesi familiare, anamnesi personale, esame clinico (generale e neurologico), caratteristiche delle crisi, indagini strumentali (**Tabella 1**) [Bianchi, 2009].

### *Anamnesi familiare*

Nelle epilessie idiopatiche, dove è ipotizzata un'eziologia genetica, viene segnalato un maggior rischio di sviluppo di epilessia per i fratelli di un probando affetto nell'ordine del 3-5%, rispetto al rischio cumulativo della popolazione generale dell'1-2%. Il rischio per un nuovo nato da un genitore con epilessia idiopatica è nell'ordine del 4-6%, più alto se è la madre a essere affetta. Nelle epilessie sintomatiche il rischio familiare è solo lievemente più alto rispetto alla popolazione generale e si aggira intorno al 2-3%. La **Tabella 2** riporta le percentuali di rischio di sviluppare epilessia nel caso vi sia un fratello o un figlio affetto [Anderson et al., 1991]. La raccolta dell'anamnesi familiare rappresenta uno degli elementi più importanti in caso di epilessie ad eziologia genetica. È necessario che la storia familiare sia raccolta partendo dalla costruzione di un pedigree di almeno tre generazioni (probando, genitori e nonni). La costruzione inizia dal probando, per poi passare ai genitori, ai nonni, agli zii ed ai cugini primi. Se le notizie a disposizione o la storia familiare lo suggeriscono, il pedigree può anche essere ampliato a più generazioni e fino ad includere centinaia di componenti. L'albero genealogico dovrebbe essere costruito rispettando i simboli internazionali e prestando particolare attenzione ad indicare anche gli aborti, le morti infantili,

i gemelli ed eventuali consanguineità. Ove possibile è sempre utile indicare il sesso anche dei feti (ad esempio più aborti con feti di sesso maschile sono suggestive di patologie X-linked). È necessario che lo stato di “affetto” venga specificato non solo per l'epilessia, ma anche per crisi epilettiche sintomatiche, convulsioni febbrili (per le quali si raccomanda di chiedere specificamente), presenza di disabilità cognitiva o disturbo dello spettro autistico. È importante tenere in considerazione che membri della stessa famiglia possono essere affetti da forme di epilessia differente (variabilità fenotipica). Inoltre, non è rara l'evenienza che un membro di una famiglia in studio per una epilessia genetica, sia affetto da una epilessia da causa diversa (fenocopia) come ad esempio nel caso di una epilessia chiaramente traumatica. Si raccomanda inoltre di aggiornare periodicamente la storia familiare ad ogni controllo del paziente o della famiglia oggetto di studio.

### *Anamnesi personale*

La raccolta dell'anamnesi personale inizia dalle informazioni relative alla gravidanza (durata, eventuali infezioni, minacce di aborto, movimenti fetali, gestosi, etc), e alla nascita (parto eutocico, distocico, indice di Apgar, sofferenza/asfissia etc). Importanti sono poi le tappe dello sviluppo psicomotorio, soprattutto relativamente al linguaggio e alla deambulazione, con particolare attenzione alla eventuale evenienza di regressione o stagnamento. Bisogna sempre cercare di raccogliere informazioni riguardanti tutte le comorbidità sia di tipo non neurologico (ad esempio malattie metaboliche, anomalie strutturali o insufficienza d'organo etc) sia di tipo neurologico. Relativamente a queste ultime è necessario indagare soprattutto sull'eventuale presenza di disturbo pervasivi dello sviluppo, deficit da iperattività disattenzione, dello spettro autistico, disturbi del movimento etc.

### *Esame generale e neurologico*

L'esame del paziente deve prevedere sia un esame generale che neurologico. L'esame generale è volto alla valutazione delle eventuali comorbidità evidenziate in anamnesi, la misurazione dei parametri auxologici (peso, altezza e circonferenza cranica) e la valutazione di eventuali dismorfismi minori del volto e delle estremità (in genere di sola rilevanza estetica) e dei dismorfismi maggiori d'organo (che richiedono o hanno richiesto intervento medico correttivo). Una fotografia del volto e delle estremità, sottoposta al genetista di riferimento, può talvolta permettere di formulare una ipotesi diagnostica specifica. L'esame va poi completato ed approfondito con l'esame obiettivo neurologico completo, con la ricerca di eventuali deficit focali e disturbi del movimento (in particolare movimenti involontari, disturbi parossistici e stereotipie). Ove possibile, ed almeno nel sospetto di un deficit cognitivo, il paziente dovrebbe essere sottoposto ad una valutazione standardizzata delle abilità intellettive.

### *Caratteristiche dell'epilessia*

Le informazioni relative all'epilessia sono senza dubbio la parte più importante della fenotipizzazione di un paziente. Qualora possibile si dovrebbe sempre cercare di classificare la forma di epilessia dal punto di vista sindromico facendo riferimento alle linee guida internazionali [Berg et al., 2010]. Oltre all'età di esordio è necessario conoscere il tipo o i tipi di crisi e la loro insorgenza temporale nella storia dell'individuo. L'aiuto di un testimone è spesso di fondamentale importanza ed in alcuni casi può essere utile richiedere la registrazione di home-video a testimonianza degli episodi. Altri dati importanti riguardano la durata degli episodi ed eventuali stati di male, il rapporto con il ritmo sonno-veglia, i fattori

precipitanti. Relativamente a questi ultimi è importante chiedere specificamente le circostanze in cui le crisi avvengono: stimolazioni luminose intermittenti, suoni, processi psichici superiori, etc. Altro dato di fondamentale importanza è la risposta ai farmaci antiepilettici ed in particolare la farmacoresistenza ed il peggioramento paradossale per l'utilizzo di un specifico farmaco antiepilettico. Per quanto riguarda la prognosi, la risposta terapeutica è molto spesso già essa stessa indice di prognosi della condizione clinica, altrimenti questa va valutata tenendo presente anche delle abilità cognitive e dell'eventuale coinvolgimento d'organo.

### *Indagini strumentali*

L'elettroencefalogramma (EEG) resta l'esame principale per la diagnosi di epilessia. Nei casi più semplici è possibile evidenziare anomalie EEG patognomiche di specifiche sindromi (punte onda a 3 cicli/sec nelle assenze infantili, punte centrottemporali nelle epilessie rolandiche, etc). Tuttavia anche quando l'EEG non è in grado di fornire indicazioni sindromiche specifiche, esso riesce comunque a suggerire importanti indizi, come ad esempio un rallentamento globale dell'attività elettrica cerebrale, una risposta fotoparossistica, un tremore di origine corticale (potenziali EEG evento correlati). Al di là delle limitazioni tecniche, l'EEG ha delle limitazioni temporali da tenere in considerazione: età dipendenza di specifiche anomalie (le punte onda 3 cicli/sec scompaiono in età adulta per esempio), variabilità interindividuale ed intraindividuale. In alcune condizioni, l'esecuzione di un'indagine EEG può essere ipotizzata alla ricerca di anomalie elettriche in membri clinicamente non affetti e che dovrebbero effettuare lo studio genetico. Quando necessario il neuroimaging, la risonanza magnetica va sempre preferita alla TC, che si sceglie nel sospetto di calcificazioni. Le immagini di risonanza magnetica devono essere valutate attentamente per la ricerca di anomalie della migrazione neuronale e dello



sviluppo corticale, anomalie vascolari, anomalie del corpo calloso e del cervelletto. Il mezzo di contrasto non è generalmente necessario. In alcuni casi il reperto di risonanza magnetica può già indirizzare una indagine genetica specifica (ad esempio una eterotopia periventricolare bilaterale in un paziente di sesso femminile farà avanzare l'ipotesi di una mutazione del gene filamina). Ulteriori indagini strumentali non fanno parte della routinaria caratterizzazione fenotipica ma possono essere dettate dalla necessità del caso. Ad esempio nel sospetto di una epilessia mioclonica progressiva l'esame del fondo oculare alla ricerca della macchia rosso ciliegia può indirizzare l'indagine genetica verso una sialidosi. Ancora, l'esecuzione dei potenziali evocati somatosensoriali è utile nel porre il sospetto diagnostico di Epilessia Mioclonica Progressiva già nelle fasi iniziali di malattia.

## **SEZIONE 2: Test genetici disponibili**

Per determinare la causa genetica di un'epilessia sono oggi disponibili diverse tecniche d'indagine che sono importante da conoscere al fine di scegliere quella più appropriata ed efficace a seconda del caso (**Tabella 3**). Ogni tecnica ha comunque dei limiti e nessuna è ad oggi in grado di esplorare l'intero genoma in tutta la sua complessità. Ad esempio, il sequenziamento esomico non identifica comunque le anomalie di metilazione o quelle delle regioni non codificanti. Per tale motivo, qualsiasi studio genetico richiede un consenso informato che deve essere firmato dal paziente o da un suo legale rappresentante se egli non è in grado di capirne il significato. Il consenso deve essere richiesto ad ogni membro familiare che viene studiato e deve essere richiesto per ogni esame genetico effettuato. È' inoltre importante che il consenso espliciti la volontà o meno di rendere partecipi gli altri membri familiari dei risultati dello studio.

### *Indagini citogenetiche*

Gli studi citogenetici sono molto utili in pazienti con epilessia associata a ritardo mentale, soprattutto in presenza di malformazioni maggiori, dismorfismi somatici, o quando non sia possibile una precisa diagnosi sindromica.

**L'ibridazione genomica comparativa su microarray** (array-CGH) è una tecnica sviluppata per identificare anomalie cromosomiche di tipo numerico (variazioni del numero di copie o "CNV") del contenuto di piccole porzioni cromosomiche, come duplicazioni/amplificazioni (presenza di copie in eccesso di segmenti di DNA), o delezioni (perdite di porzioni di genoma). Il principio su cui si basa la tecnica è la comparazione quantitativa del DNA in esame o DNA test (estratto dal prelievo ematico del paziente) e del DNA genomico di

riferimento proveniente da un soggetto sano (reference DNA).

Il potere risolutivo dell'analisi è variabile: attualmente per scopi diagnostici vengono impiegati array tra 1 Mb e 100 kb [Gruppo di Lavoro in Citogenetica SIGU, 2013], ovvero 100 volte più elevata rispetto alla citogenetica tradizionale. Inoltre, l'array-CGH è in grado anche di definire esattamente la regione genomica alterata e quindi anche i geni in essa contenuti, migliorando la comprensione delle relazioni esistenti tra variazioni del numero di copie e patologia. Complessivamente, le CNVs rare, alcune delle quali coinvolgono geni-malattia noti, contribuiscono ad almeno il 10% delle epilessie infantili ed il 5% delle encefalopatie epilettiche [Epilepsy Phenome/Genome Project & Epi4K Consortium]. Quando l'epilessia non è associata a ritardo mentale ed eventualmente altre caratteristiche, l'impatto diagnostico di tale tecnica sembra essere inferiore [Striano et al., 2012; Olson et al., 2014]. Inoltre, l'applicazione dei genome-wide microarrays in estese coorti ha rivelato che ampie, ricorrenti delezioni dei cromosomi 15q13.3, 16p13.11 and 15q11.2 sono presenti in pazienti con epilessia focale o generalizzata più frequentemente che nella popolazione generale, rappresentando quindi un possibile fattore di suscettibilità [de Kovel et al., 2010; Mefford et al., 2010]. L'utilizzo del classico **Cariotipo** è ancora utile, in seconda battuta, per identificare eventuali riarrangiamenti cromosomici, quali traslocazioni o cromosomi 'ad anello' (ring 14, ring 20), non evidenziabili all'array-CGH. La **FISH (fluorescence in situ hybridization)**, invece, è ormai riservata a casi selezionati, per verificare sospetti diagnostici di sindromi da microdelezione/duplicazione e per meglio caratterizzare le anomalie cromosomiche identificate dalle altre tecniche (ad es., l'inv dup 15) [Gruppo di Lavoro in Citogenetica SIGU, 2013; [www.sigu.net/show/attivita/5/1/citogenetica#!](http://www.sigu.net/show/attivita/5/1/citogenetica#!)]. Infine, la **MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification)** permette di identificare delezioni/duplicazioni di

numerose sequenze esoniche, applicabile allo screening di interi geni in un'unica sessione sperimentale. La MLPA può essere quindi dirimente per identificare quei casi con epilessia associati a delezione intragenica, ad es, delezioni del gene SCN1A o del gene CDKL5, che risultano negativi al sequenziamento mediante PCR o all'array-CGH.

### *Sequenziamento genico/esoma*

Il **sequenziamento Sanger** è un metodo rapido per la determinazione delle sequenze di DNA mediante sintesi innescata con DNA polimerasi. Nel corso degli ultimi anni, è stato sostituito dalle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (**Next Generation Sequencing, NGS**) che permette il sequenziamento di numerosi geni, in tempi rapidi ed a costi contenuti. In realtà, il NGS comprende una varietà di tecniche che permettono il sequenziamento simultaneo di un gran numero di segmenti di DNA, che possono essere gli esoni di un gruppo selezionato di geni organizzati in pannelli oppure l'intero esoma (Møller et al., 2014; Myers & Mefford, 2015). Il **whole exome sequencing (WES)** si riferisce al sequenziamento dell'esoma (cioè la parte funzionale di genoma che codifica per proteine). Complessivamente, l'esoma umano comprende circa l' 1% del genoma e in esso si accumulano la gran parte delle mutazioni associate a patologia umana. Per ogni soggetto analizzato verrà determinato il profilo delle varianti geniche identificate e quindi eseguito un confronto con le varianti polimorfiche (non patogenetiche) distribuite nella popolazione generale. Varianti dell' esoma assenti o estremamente rare nella popolazioni generale verranno considerate quali mutazioni putative. Le mutazioni putative verranno quindi prioritizzate in relazione alla insorgenza de novo (assenti nei genitori) e allo stato di omozigosi (entrambe le copie geniche affette dalla stessa mutazione) od eterozigosi composta (due mutazioni diverse nello stesso gene). Non

tutte le mutazioni clinicamente rilevanti (sequenze regolatrici non codificanti, delezioni/duplicazioni di esoni) sono identificate da questa tecnica (Møller et al., 2014; Myers & Mefford, 2015).. La **Tabella 4** suggerisce schematicamente quando applicare i diversi approcci di sequenziamento per scopi di diagnosi clinica (che sono distinti da applicazioni per scopi di ricerca di base). Le tecniche NGS sono potenzialmente di grande utilità per lo studio delle epilessie genetiche ma generano una varietà di risultati incidentali la cui corretta interpretazione può essere complicata (vedi sotto). Quindi, prima di effettuare i test NGS i pazienti dovrebbero essere informati dal genetista medico sui possibili risultati attesi, distinguendo chiaramente tra test diagnostici clinici e sequenziamento a scopo di ricerca con possibili ricadute diagnostiche. I test NGS devono esser fatti in laboratori diretti da genetisti con ampia esperienza in genetica medica e genomica.

### **SEZIONE 3: Epilessie candidate allo studio genetico**

#### **Epilessie Idiopatiche**

Le epilessie idiopatiche sono definite come epilessie a nota o presunta eziologia genetica, solitamente età-dipendenti, e contraddistinte da aspetti clinici ed elettroencefalografici ben definiti (Berg et al., 2010). Negli ultimi anni, grazie alla disponibilità di tecnologie NGS si è riuscito a identificare la causa genetica di molte di queste condizioni. Si tratta per lo più di mutazioni di geni che codificano per proteine di membrana che hanno funzione di canali ionici (es., SCN2A, SCN8A, KCNQ2, KCNQ3), recettori sinaptici (CHRNA4, CHRN2, CHRNB2, CHRNB3) o proteine secrete a livello cerebrale (LG1, RELN) con diverse funzioni, in molti casi ancora da definire. Tali forme hanno per la maggior parte un esordio in età neonatale-infantile, ma vi sono anche delle forme di epilessia ad esordio in età giovane-adulta.

#### *Epilessie Generalizzate Idiopatiche*

Nell'epilessia con assenze dell'infanzia, vi è certamente una predisposizione familiare, ma ad oggi non sono stati identificati geni specifici. Nelle assenze precoci, ad esordio prima dei 4 anni, vi sono state delle segnalazioni di mutazioni del gene SLC2A1 codificante il trasportatore cerebrale del glucosio (Glut1) in circa il 10% dei casi (Arsov et al., 2012).

L'Epilessia Mioclonica Giovanile è una condizione molto eterogenea dal punto di vista genetico. In alcune famiglie vi è evidenza di trasmissione AD, spesso a penetranza incompleta. Si tratta dei geni GABRA1, GABRG2, GABRB3 e GABRD codificanti rispettivamente per le subunità A1, c2, B3, e D del recettore GABA(A) ed il gene EFHC1 (mioclonina) (Suzuki et al., 2004). Tuttavia, l'applicabilità del test genetico in persone con Epilessia Generalizzata Idiopatica ha scarso impatto clinico.

### *Epilessie focali del primo anno di vita*

Si tratta di un gruppo di condizioni che interessa neonati o lattanti altrimenti sani, ad esordio generalmente entro i 8 mesi di vita. Hanno una evoluzione benigna con remissione spontanea, nella maggior parte nei primi 2 anni. In base all'età di esordio, si distinguono in:

- Crisi Neonatali Familiari Benigne (BFNS - Benign Familial Neonatal Seizures)
- Crisi Neonatali-Infantili Familiari Benigne (BFNIS - Benign Familial Neonatal-Infantile Seizures)
- Crisi Infantili Familiari Benigne (BFIS - Benign Familial Infantile Seizures).

Si manifestano con crisi focali, eventualmente con secondaria generalizzazione. Possono occorrere singolarmente o in cluster della durata di 2-3 giorni. L'evoluzione è favorevole nella maggior parte dei casi, con remissione delle crisi e successivo sviluppo psicomotorio normale. Studi genetici negli ultimi 15 anni, hanno condotto all'identificazione dei geni responsabili di tale condizione in circa il 90% dei casi familiari (Zara et al., 2013) e 20-30 % dei casi sporadici (Gardella et al., 2016). La trasmissione è di tipo autosomico dominante (AD). Le mutazioni genetiche identificate nelle Crisi Neonatali Familiari Benigne riguardano i geni KCNQ2 (potassium channel, voltage-gated, subfamily Q, member 2 – OMIM 602235) e KCNQ3 (potassium channel, voltage-gated, subfamily Q, member 3 - OMIM 602232), codificanti rispettivamente per due subunità del canale del potassio voltaggio-dipendente. Il gene maggiormente coinvolto è KCNQ2, per il quale sono riportate più di 80 differenti mutazioni; più rare sono le mutazioni a carico del gene KCNQ3. Nel 15% dei casi è riportata l'occorrenza di sporadiche crisi febbrili e afebbrili nel follow-up (Grinton et al., 2015), soprattutto nei pazienti con mutazione KCNQ2 (31% dei pazienti con questa mutazione). Recentemente, mutazioni del gene KCNQ2 sono state riscontrate essere responsabili di

forme con evoluzione in encefalopatia epilettica, caratterizzate da persistenza di epilessia, comparsa di ritardo cognitivo e disturbi comportamentali. Non è stata ancora identificata una chiara correlazione genotipo-fenotipo per distinguere le forme ad evoluzione benigna da quelle ad evoluzione in encefalopatia epilettica. Infine in quest'ultima condizione è stata descritta una particolare sensibilità ai farmaci sodio-bloccanti quali fenitoina e carbamazepina (Pisano et al., 2015), un fattore clinico può essere utile nella indirizzare lo studio genetico.

Nelle Crisi Infantili Familiari Benigne, invece, il gene più frequentemente coinvolto è *PRRT2* (proline-rich transmembrane protein 2 gene – OMIM 614386), localizzato sul 16p11.2 e codificante per una proteina di membrana che interagisce con la proteina sinaptosomale associata 25 (SNAP25). Anche il gene *SCN2A*, precedentemente considerato responsabile della forma ad esordio neonatale-infantile (BFNIS), è stato riscontrato in forme ad esordio più tardivo, tra i 6-8 mesi (BFIS). In casi più rari sono state riscontrate anche mutazioni dei geni *KCNQ2* e *KCNQ3* (Zara et al., 2013). Infine, recentemente è stata descritta una famiglia con fenotipo BFIS, a trasmissione AD, con mutazione del gene *CHRNA2*, codificante per un recettore colinergico (Trivisano et al., 2015). In alcuni casi, pazienti con BFIS possono manifestare anche discinesia kinesigenica parossistica (PKD) (OMIM128200), tipicamente associata a mutazioni nel gene *PRRT2*, responsabile dell'80-90% dei casi familiari e 30-35% dei casi sporadici di BFIS, PKD e ICCA (Gardella et al., 2016). In alcune famiglie, soggetti con mutazione *PRRT2* possono presentare anche emicrania, con e senz'aura e/o emicrania emiplegica, associata o meno all'epilessia (van Vliet et al., 2012). Più recentemente, dall'analisi di 16 famiglie risultate negative per mutazioni di *PRRT2*, ne sono state identificate



tre con mutazione *SCN8A*. La mutazione riscontrata è risultata la stessa nelle tre famiglie: mutazione missenso c.4447G>A; p.E1483K (Gardella et al., 2016).

Approccio all'indagine genetica:

Per le forme ad esordio neonatale (BFNS) ricercare mutazioni nei geni *KCNQ2* (più frequente) e *KCNQ3*. Per le forme ad esordio neonatale-infantile (BFNIS), ricercare mutazioni nei geni *SCN2A* e *KCNQ2*. Tali indagini sono attualmente eseguite per la maggior parte attraverso pannello di NGS o sequenziamento diretto di ciascun gene. Per le forme ad esordio infantile (BFIS) è opportuno eseguire dapprima l'analisi molecolare del gene *PRRT2* mediante sequenziamento diretto. La mutazione più frequente del gene *PRRT2* (c.649\_650InsC) non è infatti evidenziabile con pannello NGS. Se tale analisi risulta negativa, procedere all'analisi degli altri geni (dapprima *SCN2A*, *KCNQ2*, poi *SCN8A*, *KCNQ3*, *CHRNA2*) mediante pannello di NGS o sequenziamento diretto di ciascun gene. Nel caso di BFIS associata a PKD, procedere al sequenziamento diretto del gene *PRRT2*, se negativo procedere con l'analisi di *SCN8A*. Bisogna tuttavia considerare che si tratta di uno spettro fenotipico di *crisi familiari infantili benigne* e pertanto anche dal punto di vista genetico tutti i geni (*SCN2A-KCNQ2-KCNQ3-PRRT2-SCN8A*) possono essere responsabili delle diverse forme di questo spettro. Questo tipo di analisi è facilitata dalla disponibilità di pannelli di NGS. In ogni caso, rimane di fondamentale importanza orientare il genetista in base al fenotipo verso il genotipo più probabile. Nel caso di negatività per mutazioni puntiformi all'analisi mediante NGS, procedere all'analisi MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) per la ricerca di delezioni. In circa il 10% dei pazienti con BFNS, BFIS e BFNIS non viene identificata una causa genetica.

### *Epilessia Rolandica*

L'Epilessia Rolandica è una forma di epilessia idiopatica ad esordio tra i 3-12 anni (picco tra 5-8 anni), in bambini con normale sviluppo psicomotorio. Le crisi occorrono prevalentemente in sonno e sono caratterizzate da clonie orofaciali e scialorrea, talora secondariamente generalizzate. E' una forma di epilessia ad evoluzione benigna con remissione delle crisi e normale sviluppo cognitivo. Tuttavia alcuni bambini possono sviluppare con dei disturbi neuropsicologici selettivi coinvolgenti il linguaggio, l'attenzione o il comportamento. Alcuni geni quali PRRT2, KCNQ2, KCNQ3, GRIN2A, RBFOX1, DEPDC5 sono stati associati a questa forma di epilessia idiopatica. Tuttavia queste mutazioni non sono state confermate in ampie serie di pazienti con epilessia rolandica. Mutazioni del gene GRIN2A sono state riscontrate nel 20% circa delle forme atipiche di epilessia rolandica, associata a disturbi cognitivo-comportamentali (Lemke et al., 2013). Tutti i geni sopramenzionati sono a trasmissione AD.

### *Approccio all'indagine genetica:*

Le indagini genetiche nell'epilessia rolandica tipica non sono diagnostiche. Al momento vi sono soltanto singole segnalazioni, non confermate in ampie popolazioni di pazienti. Nelle forme atipiche può essere utile ricercare mutazioni del gene GRIN2A, mutato nel 20% dei casi.

### *Epilessia frontale notturna a trasmissione autosomica dominante*

L'epilessia frontale notturna a trasmissione AD (autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy - ADNFLE) è una forma di epilessia ad esordio nelle prime due decadi di vita, nella

maggioranza dei casi intorno ai 10 anni. Le crisi si verificano prevalentemente nel sonno notturno e sono per la maggior parte ipermotorie, ma possono verificarsi anche crisi con manifestazioni toniche o distoniche. Insorge in soggetti con normale sviluppo psicomotorio, tuttavia una minoranza degli individui può sviluppare disturbi cognitivi e psichiatrici. Soggetti affetti da ADNFLE hanno una buona risposta alla carbamazepina. La trasmissione è di tipo AD. I geni identificati quali responsabili di questa forma di epilessia sono *CHRNA4* (cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha polypeptide 4 – OMIM 118504 ) e *CHRNA2* (cholinergic receptor, neuronal nicotinic, beta polypeptide 2 – OMIM 118507), codificanti rispettivamente per le subunità alfa4 e beta2 dei recettori neuronali colinergici (AChR). Tali mutazioni sono state riscontrate nel 20% circa dei casi familiari e nel 5% dei casi sporadici. E' stata inoltre descritta una famiglia con ADNFLE atipica, con manifestazioni critiche di paura e *wandering*, causate da mutazione del gene *CHRNA2* (cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha polypeptide 2 - OMIM 118502), codificante per la subunità alfa2 del recettore colinergico (Aridon et al., 2006). Più recentemente, mediante WES, sono state identificate mutazioni del gene *KCNT1* (potassium channel, subfamily t, member 1 - OMIM 608167) in casi sia familiari che sporadici di ADNFLE (Heron et al., 2012). In questi soggetti è stata riscontrata una più precoce età di insorgenza dell'epilessia e una maggiore predisposizione a manifestare disturbi cognitivi e psichiatrici. Infine, sono state descritte mutazioni dei geni *DEPDC5* e *NPRL3* che codificano per un complesso di 3 proteine (GATOR1), con funzione di regolazione del complesso mTOR, in cui l'epilessia frontale è stata più o meno associata alla presenza di malformazioni corticali (Korenke et al., 2015).

*Approccio all'indagine genetica:*

Nei soggetti con ADFLE ricercare le mutazioni dei geni CHRNA4, CHRN2, CHRNA2 (quest'ultima meno frequente). KCNT1 è associata a un esordio più precoce e alla presenza di disturbi cognitivi e psichiatrici. Mutazioni dei geni DEPDC5, NPRL3, sono state riscontrate in soggetti con ADFLE più o meno associata a malformazioni corticali. L'approccio all'indagine genetica è mediante pannello NGS. In caso di negatività procedere con analisi MLPA per la ricerca di delezioni-duplicazioni.

### *Epilessia del lobo temporale laterale a trasmissione autosomica dominante*

L'epilessia del lobo temporale laterale a trasmissione AD (ADLTE; OMIM 600512), anche conosciuta come epilessia focale AD con sintomi uditivi (autosomal dominant partial epilepsy with auditory features -ADPEAF), è una condizione ben definita caratterizzata da crisi focali con prevalenti sintomi uditivi, ad esordio in età adolescenziale o giovane-adulta, ad evoluzione favorevole. In una minoranza dei casi è riportata un'aura visiva, isolata o in associazione a sintomi uditivi (Michelucci et al., 2013). La trasmissione è di tipo AD, con penetranza incompleta (Rosanoff and Ottman, 2008). Nel 30-50% delle famiglie è stata identificata una mutazione del gene LGI1 (Michelucci et al., 2013; Ottman et al., 2004). Tale percentuale è notevolmente ridotta nei casi sporadici in cui mutazioni di LGI1 sono state riscontrate soltanto nell'1% dei casi (Bisulli et al., 2004). Il gene LGI1 (Leucine rich, Glioma inactivated 1 gene - OMIM 604619) codifica per una glicoproteina che contiene un dominio ricco di ripetizioni di leucina (LRR). Delezioni del gene LGI1 sono state descritte in famiglie con ADLTE ma non in casi sporadici di LTE. Più recentemente è stato identificato il gene RELN, quale causa di ADLTE in 7 di 40 famiglie (17.5%), risultate negative per mutazioni del

gene LGI1 (Dazzo et al., 2015). Il gene RELN codifica la Reelina, una glicoproteina secreta a livello neuronale. Studi su ratti, è stato evidenziato che Reelina e LGI1 co-localizzano a livello nei neuronale, suggerendo l'ipotesi che siano entrambi coinvolti in un pathway comune alla base dell'ADLTE. Precedentemente, mutazioni in omozigosi del gene RELN sono state identificate quali causa di lissencefalia con ipoplasia cerebellare.

#### Approccio all'indagine genetica:

Nelle famiglie con ADLTE, ricercare mutazioni del gene LGI1 (positivo nel 30-50%) e RELN (positivo nel 17% dei casi negativi per LGI1) mediante pannello NGS. Si può anche cominciare col sequenziamento diretto di LGI1, che è quello più frequentemente mutato, mentre il sequenziamento diretto di RELN è sconsigliato, date le dimensioni di questo gene (65 esoni). Nei casi sporadici le indagini genetiche su LGI1 sono positive soltanto nell'1%. In caso di assenza di mutazioni puntiformi in LGI1, ricercare delezioni/duplicazioni con MLPA, tenendo presente che sono più rare e che non sono descritte nei casi sporadici ma soltanto in casi familiari.

#### *Genetic epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+)*

Nell'ambito delle forme di epilessie idiopatiche, rientrano anche le GEFS+ (generalized epilepsy with febrile seizures *plus*”, successivamente modificate in “genetic epilepsy with febrile seizures *plus*” (sempre GEFS+), perché possono essere presenti anche crisi focali (Scheffer and Berkovic, 1998). La trasmissione è AD a penetranza variabile. Un terzo dei membri presenta soltanto crisi febbrili, che tendono a persistere oltre i 5-6 anni fino a 10 anni di età; un terzo presenta crisi afebrili nell'infanzia; il rimanente terzo può presentare epilessie

quali Assenze dell'Infanzie o Epilessia Mioclono-Astatica, ma anche epilessie focali, in particolare epilessia del lobo temporale. La maggior parte delle famiglie con GEFS+ presentano mutazioni di *SCN1A*, tipicamente mutazioni missenso. Meno frequentemente sono state descritte mutazioni dei geni codificanti i canali sodio voltaggio-dipendenti *SCN2A* e *SCN1B* oppure *GABRG2* e *GABRD*, codificanti le subunità del recettore GABA(A).

#### Approccio all'indagine genetica:

Nelle famiglie con GEFS+ andrebbero ricercate prima mutazioni in *SCN1A*, poi *SCN2A* e *SCN1B* oppure *GABRG2* e *GABRD*. Tuttavia la maggior parte dei casi l'analisi genetica è di negativa o di scarso impatto clinico.

### **Encefalopatie epilettiche**

Le Encefalopatie Epilettiche sono un gruppo di epilessie tipicamente ad esordio pediatrico e frequentemente gravi, caratterizzate da crisi frequenti e intrattabili, di solito grave perturbamento dell'attività elettrica cerebrale e arresto o regressione cognitiva, in cui l'epilessia di per se contribuisce allo sviluppo della disabilità intellettiva. Rientrano in questa categoria circa il 40% delle epilessie dei primi 3 anni di vita.

Dal punto di vista clinico le Encefalopatie Epilettiche sono tangenti ad una costellazione di patologie neurologiche complesse che includono epilessia e ritardo mentale, sui cui confini e distinzioni non esiste un chiaro consensus e che rendono le attuali classificazioni largamente arbitrarie. Tuttavia, in relazione all'età di esordio dei diversi sintomi, alla semeiologia delle crisi, alla presenza di specifici pattern elettroencefalografici, e allo sviluppo di manifestazioni neurologiche accessuali si distinguono diverse forme, tra le quali le più caratteristiche e

comuni sono la sindrome di Ohtahara, l'Epilessia Maligna dell'Infanzia con Crisi Migranti, la sindrome di West (o degli spasmi infantili), la sindrome di Dravet e la sindrome di Lennox-Gastaut. Tuttavia molti bambini con manifestazioni epilettiche gravi e deficit cognitivi non rientrano in entità elettrocliniche definite (Gobbi et al., 2014; Nieh & Sherr, 2014).

### Approccio all'indagine genetica:

L'eziologia delle Encefalopatie Epilettiche è eterogenea e include cause congenite e acquisite; studi recenti tuttavia hanno evidenziato l'importanza centrale dei fattori genetici.

Mutazioni genetiche causa di EE sono per lo più sporadiche, ossia derivanti da mutazioni de novo in un unico gene ad espressione autosomica dominante, tuttavia esistono anche forme di EEs autosomiche recessive e forme X-linked. Inoltre, è già stato dimostrato che mutazioni analoghe si possono associare a sindromi epilettiche differenti (espressività variabile), due individui portatori della stessa mutazione genetica hanno una diversa probabilità di sviluppare epilessia (penetranza incompleta), la stessa sindrome epilettica monogenica può essere provocata da mutazioni di geni differenti (eterogeneità genetica). Questo spiega perché la relazione tra genotipo e fenotipo epilettico non sia sempre lineare e perché nell'ambito delle EE quadri sindromici analoghi possano trovarsi associati a diverse mutazioni geniche e, al contrario, perché quadri sindromici diversi possano associarsi a una stessa mutazione genica. Una corretta condotta clinica, pertanto, non deve affidarsi ad una ricerca genetica serrata ed incondizionata, ma deve essere la risultante di un approfondito studio del quadro clinico ed elettroencefalografico del paziente con lo scopo di caratterizzare nel miglior modo possibile l'inquadramento sindromico. Le correlazioni genotipo-fenotipo nelle encefalopatie epilettiche appaiono talvolta stringenti, come ad esempio nel caso del gene SCN1A associato

alla Sindrome di Dravet, ma più frequentemente sfumate, poiché mutazioni in uno specifico gene possono associarsi a diverse Encefalopatie Epiletiche (eterogeneità allelica) e viceversa una specifica sindrome può essere sottesa da mutazioni in diversi geni (eterogeneità genetica). In questo contesto complesso è possibile individuare sei grandi raggruppamenti clinici all'interno dei quali riconoscere significative correlazioni genotipo-fenotipo: 1) le Encefalopatie associate a crisi piridossina-dipendenti; 2) lo spettro spasmi infantili/Sindrome di West; 3) la Sindrome di Dravet e le forme correlate; 4) lo spettro CSWS/Sindrome di Landau Kleffner; 5) le Encefalopatie ad esordio nel primo anno di vita non classificate o non incluse nelle precedenti categorie, tra le quali la Sindrome di Ohtahara; 6) le Encefalopatie Epiletiche con esordio successivo al primo anno di vita, tra cui la Sindrome di Lennox-Gastaut.

Nella **Tabella 7** sono state riportate le caratteristiche principali di alcune delle più frequenti encefalopatie epiletiche ordinate secondo l'età d'esordio e non secondo raggruppamento sindromico. Sono state escluse le Encefalopatie Miocloniche Precoci da causa metabolica (EME), per le quali si rimanda a OMIM ([omim.org](http://omim.org)), perché la loro evoluzione non è dovuta al tipo di encefalopatia epiletica di per se, ma alla malattia metabolica che le sottende.

### Approccio all'indagine genetica

L'approccio più pratico è lo studio con pannelli epilessia e, se negativo, con array-CGH. In casi selezionati, si può applicare lo studio esomico (WES).

### **Epilessie associate a malformazioni dello sviluppo corticale**

Le malformazioni dello sviluppo corticale (MCD) rappresentano una frequente e ben



riconosciuta causa di epilessia sintomatica. In alcuni pazienti, un costante fenotipo epilettico corrisponde alla sindrome malformativa ma, nella maggior parte dei pazienti e principalmente tra quelli con displasie corticali focali, il tipo di epilessia è estremamente variabile dipendendo in larga misura dal tipo di malformazione e dalla sua localizzazione cerebrale. (Kuzniecky, 2015). Ad oggi più di 100 geni sono segnalati in associazione a diversi quadri di MCD. Gene e vie biologiche interessate sono la mitosi, l'apoptosi, la cell-fate specification, la struttura e la funzione citoscheletro, la migrazione neuronale e le funzione di membrana. Un recente studio genetico ha mostrato mutazioni causali postmitotiche nel 17% di un ampio campione di pazienti con MCD; la maggioranza non erano erano rilevabili con il sequenziamento comune ma evidenziate attraverso il subcloning ed il successivo sequenziamento del DNA subclonato. (Jamuar et al., 2014)

Lo schema di classificazione corrente per le MCD si basa sulla alterazione delle principali fasi di sviluppo neuronale (Barkovich et al., 2012.) Il gruppo I è costituito dalle malformazioni secondarie ad anormale proliferazione neuronale e gliale ed apoptosi. Il gruppo II comprende le malformazioni secondarie di anormale della migrazione neuronale. Il gruppo III è rappresentato dalle malformazioni secondarie ad anomalie della migrazione neuronale e postmigrazionali. Sebbene la classificazione riconosca quale sia il processo primariamente coinvolto, i geni correlati alle MCD sono implicati in molte fasi dello sviluppo cerebrale che sono a loro volta geneticamente e funzionalmente interdipendenti.

Recentemente è stata proposta una nuova classificazione basata sulle vie neurobiologiche coinvolte nello sviluppo delle MCD e sulla neuroimaging (Guerrini & Dobyns, 2014). Sono stati individuati quattro gruppi differenti di MCD: le megalencefalie e le displasie corticali focali; le tubulinopatie e le lissencefalie; le sindromi con micropoligiria; le eterotopie corticali.

Questa classificazione rappresenta una fondamentale base per indirizzare il percorso genetico nelle epilessie da MCD, tenendo conto che è comunque indispensabile una corretta ed approfondita caratterizzazione del fenotipo clinico (neurologico/epilettologico) e di neuro immagine. La **Tabella 8** riporta i geni più frequentemente associati a malformazioni dello sviluppo corticale.

### *Megalencefalia/emimegalencefalia*

Il termine megalencefalia si riferisce ad una circonferenza di 3 DS o più rispetto norma. Recenti studi hanno dimostrato che la megalencefalia con corteccia normale all'imaging,, megalencefalia con polimicrogiria, e megalencefalia displasica (compresa la classica emimegalencefalia) possono tutte risultare da mutazioni degli stessi geni della pathway PI3K-AK (Riviere et al., 2012). In bambini con megalencefalia diffusa, simmetrica o lievemente asimmetrica, le crisi epilettiche possono iniziare in qualsiasi momento infanzia, con esordio dai primi giorni di vita all'età di 4-5 anni (Mirzaa et al., 2012). I soggetti con megalencefalia displasica (un gruppo che comprende l'emimegalencefalia) in genere hanno una più grave grave disabilità intellettiva e motoria. L'epilessia di solito esordisce nelle prime settimane o mesi di vita, spesso con la sindrome degli spasmi epilettici e altre encefalopatie epilettiche.

### *Approccio all'indagine genetica*

Per queste forme ricercare mutazioni dei geni della cascata PI3K-mTOR-AKT. Tale indagine è attualmente eseguita in un pannello di NGS dedicato specificatamente a questo pathway.

### *Lissencefalia/pachigiria*

Recenti studi hanno dimostrato che lissencefalia e pachigiria-like sono malformazioni associate a mutazioni degli stessi geni e pathways, che danno origine a una serie di distinte MCD. Sono stati identificati finora circa una dozzina di geni implicati nelle tubulinopatie (DYNC1H1, KIF2A, KIF5C, TUBA1A, TUBA8, TUBB, TUBB2B, TUBB3 e TUBG1) ma nel pattern lissencefalico le mutazioni dei geni LIS1 e DCX risultano le più comuni. Altri geni (ARX, RELN, VLDLR) sono stati segnalati anche in associazione ad un fenotipo più complesso (Guerrini & Dobyns, 2014). I pazienti con mutazioni dei geni della cascata della tubulina hanno gravi deficit dello sviluppo neurologico e crisi intrattabili, con frequente esordio con la sindrome degli spasmi infantili, spesso senza la classica ipsaritmia. Sono presenti frequentemente crisi polimorfe (focali, toniche, tonico-cloniche, assenze atipiche) con evoluzione verso un pattern clinico-EEG di sindrome di Lennox-Gastaut

### *Approccio all'indagine genetica*

Per queste forme ricercare mutazioni dei geni delle tubulinopatie. Tale indagine è attualmente eseguita in un pannello di NGS dedicato alle malformazioni cerebrali.

### *Polimicrogiria*

Il termine polimicrogiria (PMG) descrive una corteccia cerebrale con molte circonvoluzioni eccessivamente piccole. La distribuzione topografica varia notevolmente, da simmetrica bilaterale ad asimmetrica ed unilaterale. La corteccia perisilviana è la più frequente interessata. Recenti dati clinici e da modelli animali evidenziano chiaramente l'eterogeneità e la differente patogenesi delle MCD descritte come PMG (Guerrini & Dobyns, 2014). La

sindrome clinica più definita è la PMG perisilviana bilaterale, in cui deficit oromotorio e disabilità intellettiva si associano ad una epilessia con crisi focali e secondariamente generalizzate. Alcuni pazienti con PMG unilaterale possono sviluppare una condizione elettroclinica transitoria con crisi intrattabili ed uno stato di punta-onda continua in sonno. La sostanziale eterogeneità patologica, di imaging e clinica suggeriscono che PMG non è una singola malformazione di per sé ma comprende diversi fenotipi. Recenti segnalazioni evidenziano mutazioni del gene PIK3R2 nella sindrome perisilviana bilaterale ma non sembra comune riscontrare una isolata PMG con mutazioni (Kuzniecki, 2015).

#### Approccio all'indagine genetica

Per queste forme ricercare mutazioni dei geni delle malformazioni cerebrali nei pannelli di NGS dedicati.

#### *Eterotopie*

L'eterotopia nodulare periventricolare (PNH) è la più frequente e più estesamente definita forma di eterotopia neuronale, condizione che definisce la presenza di neuroni normali in posizione inappropriata. Nei soggetti con PNH il più frequente sintomo d'esordio sono le crisi epilettiche focali, fino all'80-90% dei pazienti, con età d'esordio variabile (Guerrini & Dobyns, 2014). La forma più comune di PNH è causata da mutazioni nel gene X-linked della filamina (FLNA), che colpisce prevalentemente il sesso femminile. Il secondo gene frequentemente associato a PNH è l'ARFGEF2. Altri possibili geni candidati sono CADM1, DMT1, EML1 (Guerrini & Dobyns, 2014).

### Approccio all'indagine genetica

Per queste forme ricercare mutazioni dei geni delle malformazioni cerebrali nei pannelli di NGS dedicati.

### ***Epilessie miocloniche progressive***

Le epilessie miocloniche progressive (EMP) comprendono diverse malattie neurologiche a carattere ereditario e progressivo ed esordio nella seconda infanzia o nell'adolescenza, il cui comune fenotipo è caratterizzato da mioclonie associate a crisi epilettiche e, in misura variabile, ad altri segni neurologici, in particolare demenza e atassia. Sintomo necessario per la diagnosi di EMP è la presenza di mioclono corticale ad esordio infantile tardivo o giovanile (raramente in età adulta), con una fase successiva, spesso molto vicina all'esordio, di aggravamento (Shahwan A, et al., 2005). Le crisi epilettiche, pur essendo un sintomo comune, potrebbero essere assenti in alcuni pazienti, in relazione all'inizio precoce del trattamento con farmaci antiepilettici o in situazioni particolarmente lievi. La loro variabilità fenotipica e la presenza di alcune forme particolarmente lievi rende complessa la diagnosi soprattutto nelle fasi iniziali di malattia, in cui alcune forme possono essere confuse con epilessia generalizzata idiopatica, in particolare epilessia mioclonica giovanile, ad esordio nella stessa fascia di età (vedasi **Table 9 e 10**). Nella maggior parte dei casi, le EMP hanno ereditarietà autosomica-recessiva, quindi non sono presenti antecedenti familiari. Tuttavia, per tale motivo, va indagata con particolare attenzione una possibile consanguineità dei genitori (ad esempio la loro provenienza da un'area geografica ristretta). Da considerare, inoltre, che in alcune forme la trasmissione può essere dominante o matrilineare (per esempio nelle forme mitocondriali). In alcuni casi, il difetto genico può essere "de novo".

### Approccio all'indagine genetica

Le malattie che danno luogo fenotipo PME relativamente più comuni sono: la malattia di Unverricht-Lundborg, la malattia di Lafora, le ceroidolipofuscinosi ad esordio giovanile e adulto, la sindrome MERRF (myoclonus epilepsy with ragged-red fibers), la sindrome AMRF (action myoclonus renal failure), la sialidosi, la malattia di Huntington, la malattia di Gaucher tipo III, la malattia di Niemann Pick tipo C, l'atrofia dentato-rubro-pallido-luisiana, la distrofia neuroassonale infantile, la forma associata a GOSR2, la forma associata a mutazione di canale del potassio KCNC1 e le rare forme di atassia con presentazione mioclono-epilettica (AFG3L2 e SACS) (**Tabella 11**). Rimane tuttavia una percentuale significativa di forme ancora non classificabili per eziologia (Franceschetti, et al., 2014).

### **Epilessie su base metabolica**

Gli errori congeniti del metabolismo comprendono una vasta classe di malattie genetiche la cui presentazione è di solito nel periodo neonatale o infanzia, ma può verificarsi anche in età adulta (Pearl & Yuezhou, 2013). L'epilessia è un sintomo frequente degli errori congeniti del metabolismo, il più delle volte senza caratteristiche elettrocliniche specifiche, ma talora dominando il quadro clinico, soprattutto nei neonati e nei bambini. La diagnosi di un difetto genetico o un errore congenito del metabolismo si traduce spesso in richieste di una vasta gamma di test biochimici e molecolari che portano ad un iter costoso. Tuttavia una diagnosi specifica di disturbi metabolici in pazienti epilettici può prevedere la possibilità di trattamenti specifici come nel caso della dieta chetogena in pazienti con deficit di GLUT-1 o della somministrazione di vitamina B6 o piridossalfosato in pazienti con rispettiva carenza su base genetica (vedi sezioni successive).

#### **SEZIONE 4: Rilevanza clinica ed implicazioni terapeutiche**

Negli ultimi anni, gli entusiasmanti progressi della biologia molecolare, della genomica e delle tecnologie correlate hanno significativamente aumentato la nostra comprensione dei meccanismi molecolari responsabili dell'epilessia. Test genetici sono oggi disponibili per la maggior parte delle encefalopatie epilettiche e di numerose epilessie idiopatiche. L'impatto delle informazioni genetiche è influenzato da molti fattori, tra cui il contesto clinico di epilessia all'interno di una famiglia (di gravità, età di esordio, disponibili trattamenti), caratteristiche individuali (sesso, fase di vita, etnia, istruzione), e il contesto della comunità e valori (religione, social network, supporto, preferenze personali). Nella pratica clinica, quindi, la consulenza genetica si basa sui dati epidemiologici e stime di rischio empiriche. Tuttavia l'identificazione di geni-epilessia, ad oggi implicati in rare sindromi mendeliane, fornisce al clinico specifici test molecolari per la diagnosi precedentemente affidata agli accertamenti neurofisiologici e clinici. Nelle epilessie miocloniche progressive ad esempio è possibile offrire la diagnosi prenatale ed analizzare i portatori per l'individuazione di coppie a rischio.

Il test genetico-molecolare rende non solo possibile identificare la causa dell'epilessia nel singolo paziente ma, in alcuni casi, permette di attuare strategie terapeutiche (farmacologiche e non) specifiche per quel determinato difetto genetico (**Tabella 9**). Di seguito riportiamo alcuni esempi:

- a) **Risposta ai farmaci antiepilettici (FAE).** Ci sono diversi esempi in cui la scoperta del difetto genetico alla base di una determinata forma di epilessia può spiegare, totalmente o in parte, la risposta sia essa positiva che negativa (paradosa) a determinati FAE. Tipicamente nella sindrome di Dravet, associata a mutazioni del gene che codifica per il canale del sodio (*SCN1A*) è riportato un peggioramento del quadro clinico con i farmaci sodio-bloccanti, come

lamotrigina, carbamazepina e fenitoina, che andrebbero quindi evitati. Analogamente, i FAE sodio bloccanti sono da considerare terapia di prima scelta nell'encefalopatia epilettica legata a mutazione del gene *KCNQ2* (Striano et al., 2016).

b) **Eventi avversi ai FAE.** Negli ultimi anni si sono moltiplicati gli studi che hanno cercato un rapporto tra alterazioni a livello genetico e comparsa di reazioni avverse ai FAE farmaci. La capacità di prevedere, sulla base di test genetici, la possibile insorgenza di reazioni cutanee da farmaco eviterebbe infatti la somministrazione di farmaci potenzialmente rischiosi ad individui suscettibili. Studi di farmacogenetica per identificare marcatori genetici di predisposizione alle gravi reazioni da farmaci hanno individuato polimorfismi in geni codificanti nella regione MHC (sistema maggiore di istocompatibilità). La presenza di tali varianti geniche è stata associata al rischio di reazioni cutanee da farmaco in alcune popolazioni particolari. L'esempio più noto è quello della popolazione cinese di etnia Han ed in generale degli individui di origine asiatica, portatori dell'allele HLA-B\*1502, che sono fortemente a rischio di gravi reazioni cutanee, come la sindrome di Stevens-Johnson (SJS) e la necrolisi tossica epidermica (TEN), in seguito all'assunzione di carbamazepina (Chung et al., 2004). Analoga associazione è stata riportata per la popolazione giapponese ed europea portatrice dell'allele HLA-A\*3101 (McCormack et al., 2011). La presenza dell'allele HLA-A\*3101 rappresenta un fattore di rischio per la sindrome di ipersensibilità, esantema maculopapulare e SJS-TEN (McCormack et al., 2011) in pazienti che assumono carbamazepina, oxcarbazepina e eslicarbazepina. Pur non essendoci dati sufficienti per sostenere la necessità di uno screening, un eventuale trattamento con tali FAE dovrebbe essere preceduto da un'attenta valutazione dei benefici e dei rischi. I dati relativi all'associazione tra oxcarbazepina e eslicarbazepina e reazioni cutanee sono molto limitati



ma, data la loro stretta correlazione strutturale con la carbamazepina, la segnalazione è stata estesa anche ai due farmaci.

c) **Dieta chetogena.** L'efficacia della dieta chetogena nella sindrome da deficit del trasportatore del glucosio (GLUT1DS) rappresenta un ottimo esempio di come la conoscenza del difetto genetico sottostante l'Epilessia possa guidare ad un trattamento specifico che, correggendo il disturbo metabolico geneticamente determinato, comporta un miglioramento non solo dell'epilessia ma anche dei sintomi neurologici (disturbo del movimento e disabilità intellettiva) associati. Mutazioni del gene *SLC2A1*, unico responsabile della sindrome, causano infatti un deficit del trasporto di glucosio attraverso la barriera emato-encefalica (Klepper et al., 2012). La dieta chetogena, ad alto contenuto lipidico e restrizione di carboidrati, è efficace nel trattamento della sindrome perché fornisce corpi chetonici al cervello come fonte energetica alternativa al glucosio (Pearson et al., 2013). La dieta dovrebbe essere iniziata il più precocemente possibile dopo la diagnosi, dato che il trattamento precoce migliora nettamente la prognosi a lungo termine. Il miglioramento delle crisi è evidente nella maggioranza dei pazienti trattati, con una percentuale variabile dal 50 al 70 % completamente liberi da crisi utilizzando solo la dieta. Più variabile invece l'efficacia sui disturbi del movimento e sul versante cognitivo (Pearson et al., 2013). Recentemente in questa sindrome è stato utilizzato un farmaco orfano, la trieptanoina, con risultati clinici efficaci non solo sull'epilessia ma anche sugli altri disturbi neurologici associati (Pascual et al., 2014). La trieptanoina è un farmaco orfano. Si tratta di un composto sintetico sperimentale sviluppato per fornire acidi grassi a catena dispari di media lunghezza che possono essere metabolizzati per aumentare i substrati intermedi nel ciclo di Krebs. La sua efficacia nella GLUT1DS è sempre legata alla produzione di corpi chetonici che forniscono un

alternativa energetica al metabolismo cerebrale compromesso dal deficit di glucosio (Pascual et al., 2014).

d) Il ruolo della genetica nella **chirurgia dell'epilessia**, intesa come rimozione della zona epilettogena, è al momento controverso. Le varianti genetiche riscontrate nei pazienti farmacoresistenti candidati alla chirurgia possono essere sia germinali che somatiche. In quest'ultimo caso si riscontrano soltanto nell'area cerebrale rimossa e nella maggior parte dei casi descritti fino ad oggi si associano ad alterazioni strutturali già evidenti al neuroimaging (displasia corticale o altro). In linea teorica, se la resezione ha rimosso completamente l'area epilettogena ed eventualmente anche tutte le cellule mutate, l'outcome postchirurgico non dovrebbe differire in questi casi da quello osservato in generale nelle epilessie focali farmacoresistenti. Mancano tuttavia studi specifici su questo argomento. Ancor più complesso il problema dei casi, lesionali e non, con mutazioni germinali in geni noti per l'epilessia (es SCN1A, DEPDC5, etc..). Al momento in letteratura ci sono solo report aneddotici senza un follow-up a lungo termine (Baulac et al., 2015). E' ipotizzabile tuttavia che in questi pazienti la rimozione della zona epilettogena non sia risolutiva essendo la mutazione patogena presente in tutte le cellule cerebrali che potrebbero dare origine ad altri foci epilettici indipendenti (come nel caso della Sclerosi Tuberosa) oppure sostenere un network epilettogeno molto più esteso dell'area rimossa. L'utilità di test genetici specifici nel work-up diagnostico dei pazienti con epilessia farmacoresistente per stabilire se siano eleggibili all'intervento è un tema al momento controverso che necessita di ulteriore approfondimento.

e) **Medicina Personalizzata (o 'di precisione')**. Analogamente a quanto accaduto in ambito oncologico, le scoperte della genetica nel campo dell'Epilessia ci hanno introdotto alla nuova

era della cosiddetta 'medicina di precisione' che ha come obiettivo offrire al singolo paziente un trattamento che interviene sullo specifico difetto genetico e a volte sulla specifica mutazione causativa della sua Epilessia (Striano et al., 2016). Ci sono varie associazioni tra mutazioni di specifici geni e scelte terapeutiche razionali. Un esempio è quello, già riportato, della dieta chetogena nei pazienti con mutazioni del gene *SLC2A1*. Altri esempi sono: l'epilessia dipendente dal piridossale 5-fosfato (Baumgart et al., 2014) dovuta a mutazione del gene *PNPO*, o *ALDH7A1*, che codifica per l'enzima piridossina 5-fosfato ossidasi. Questo enzima è coinvolto nel metabolismo della vitamina B6 di origine nutrizionale (nella forma di piridossina e piridossamina) a forma attiva, piridossale 5-fosfato (PLP). PLP è necessario in molti processi tra cui la produzione di neurotrasmettitori. Questa forma di epilessia è caratterizzata dall'insorgenza di crisi convulsive subito dopo la nascita, o in alcuni casi, anche prima della nascita. I FAE, che sono generalmente somministrati per controllare le crisi convulsive, sono inefficaci nei soggetti con epilessia PLP-dipendente. Questi individui rispondono invece al trattamento con dosaggi elevati, giornalieri, di PLP. Se non trattati possono invece sviluppare un'encefalopatia che può avere anche esito fatale. Un esempio analogo è l'uso della supplementazione con acido folico nell' epilessia dovuta a mutazioni del gene *FOLR1* (Al-Baradie & Chaudhary, 2014). Un'altra scoperta genetica molto interessante riguarda l'associazione tra mutazioni del gene *DEPDC5* e varie forme di epilessia sia familiare che sporadica con ampio spettro fenotipico (Dibbens et al., 2013). Questi dati sono particolarmente interessanti dato che *DEPDC5* fa parte del pathway mTOR, lo stesso coinvolto nella Sclerosi Tuberosa, la cui attività può essere influenzata dal un farmaco già noto come la rapamicina. mTOR è una proteina kinasi molto conservata tra le specie. La sua attività nell'organismo ha molteplici funzioni regolatorie e anomalie nelle vie di segnalazione

che la vedono coinvolta sono state ad oggi correlate a differenti patologie, dal cancro a disordini dello sviluppo neuronale (Sadowski et al.,2015). In particolare si è evidenziato come l'iperattivazione di mTOR si associ ad un ampio spettro fenotipico. L'esempio più noto è quello della sclerosi tuberosa, causata da mutazioni nei geni codificanti un complesso con attività inibitoria nei confronti di mTOR: TSC1 e TSC2. In più dell'80% dei casi è presente un'epilessia farmaco-resistente. Ciò ha spinto la ricerca a sviluppare nuovi farmaci che avessero come bersaglio l'attività di mTOR e che potessero agire come anticonvulsivi più efficaci dei FAE convenzionali, e che potessero eventualmente agire anche sull'epilettogenesi. La diagnosi di TSC infatti è solitamente effettuata prima dello sviluppo delle crisi convulsive, e la somministrazione precoce di farmaci ad hoc potrebbe avere ottime conseguenze sulla prognosi del paziente. Partendo dal noto inibitore di mTOR, la rapamicina, sono stati sviluppati nuovi farmaci derivati, noti complessivamente col termine "rapaloghi". Tra questi figurano il temsirolimus, l'everolimus (sviluppato per la somministrazione orale) e il ridaforolimus. Ad oggi sono state però sviluppate anche sostanze che inibiscono tutte le funzioni kinasi dipendenti di mTOR, bloccando così anche l'attivazione a feedback della via di segnalazione PI3K/AKT a monte di mTOR (Sadowski et al.,2015). Infine è stato sviluppato un composto che agisce inibendo in modo specifico la proteina effettrice di mTOR p70 S6 kinasi ribosomale (PF-4708671). La maggior parte degli studi su animali, utilizzando la rapamicina, hanno evidenziato un effetto positivo del farmaco sulle manifestazioni cliniche evidenti nei diversi modelli (TSC e altre "TORopatie", status epilepticus, spasmi infantili); tuttavia sono necessari altri studi per confermare l'effettiva potenzialità di questi inibitori nel trattamento di differenti forme di epilessia.

## **SEZIONE 5: Aspetti etici e costi**

In medicina, il termine “ritrovato incidentale” (corrispettivo italiano dell’espressione inglese più ricorrente in letteratura “incidental finding”, da cui l’acronimo “IF”) designa l’individuazione di un reperto diagnostico non correlato allo scopo per cui l’esame è stato prescritto (Wolf SM, 2008). Dall’analisi simultanea dei circa 20 000 geni del genoma umano, tipica di un sequenziamento esomico o genomico, è emerso che in ogni individuo è possibile riscontrare un considerevole numero di varianti potenzialmente patogene (in quanto potenzialmente in grado di alterare l’espressione o la funzionalità proteica) in geni con riconosciuto valore clinico (Lohn et al., 2013). Tali varianti possono essere considerate come IF nel contesto del sequenziamento clinico. Per molte di queste varianti, solitamente rare o private, non sono però disponibili dati genetici o funzionali che ne supportino l’effetto patogeno (Berg et al. 2013). Molte altre invece, benché sia noto che determinano suscettibilità verso una determinata malattia, sono caratterizzate da uno scarso valore predittivo. L’utilità clinica per il paziente è quindi spesso dubbia, e l’opportunità di trasferire questa informazione sul piano della consulenza genetica è stata ampiamente dibattuta sollevando importanti questioni bioetiche, sociali e legali. Per far fronte a queste problematiche, nel 2013 l’American College of Medical Genetics (ACMG) ha proposto “raccomandazioni” cui fare riferimento nel rilevare, valutare e comunicare gli IF riscontrati in un esoma/genoma clinico (Green et al., 2013). In tali raccomandazioni l’ACMG ha indicato una lista “minima” di 56 geni correlati a 24 malattie ereditarie (in prevalenza disordini cardiaci/cardiovascolari e tumori o sindromi associate a neoplasie ereditarie) per cui è opportuno e utile comunicare al paziente le eventuali varianti patogene. Nel selezionare i 56 geni, l’ACMG ha sottolineato di aver privilegiato quelle condizioni che sia possibile prevenire efficacemente intervenendo nel periodo pre-sintomatico

o per cui siano disponibili adeguate opzioni terapeutiche. Le raccomandazioni dell'ACMG suggeriscono di circoscrivere le varianti da considerare come IF a quelle appartenenti alle seguenti due categorie:

1. mutazioni patogene note (KP, dall'inglese "known pathogenic"), ovvero già riportate come tali nella letteratura scientifica o in database orientati alla raccolta di varianti associate a patologia come Human Gene Mutation Database (HGMD) o altri database dedicati a specifici geni-malattia (cosiddetti database locus-specifici);
2. mutazioni presumibilmente patogene (EP, dall'inglese "expected pathogenic"), ovvero non precedentemente osservate in associazione a patologia ma appartenenti alla tipologia di varianti che è nota essere causativa della malattia (per esempio, mutazioni "loss of function" in geni caratterizzati da aploinsufficienza).

Secondo le indicazioni della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU), allo scopo di orientare consapevolmente la scelta del paziente, tutte le categorie di varianti dovrebbero essere oggetto di discussione nell'ambito della consulenza genetica: sia gli IF "actionable", definiti come quelle varianti per cui è possibile predisporre una sorveglianza medica efficace (IF clinicamente utili), che gli altri IF che possono essere clinicamente validi ma non utili o non utili né validi (SIGU, 2016). In pratica, al paziente dovrebbe essere lasciata libera scelta sull'essere informato o meno riguardo alle varianti potenzialmente rilevanti per decisioni di tipo riproduttivo e alle varianti predisponenti a patologie ad insorgenza nell'adulto, indipendentemente dal fatto che si abbia un beneficio concreto in termini di terapia e/o prevenzione (per esempio nel caso di tumori ereditari o aritmie cardiache) oppure no (per esempio nel caso di patologie neurodegenerative ereditarie). In merito all'esoma/genoma

eseguito su minori, invece, la SIGU indica di non comunicare gli IF a meno che non si tratti di rarissime circostanze in cui è utile agire tempestivamente per prevenire il manifestarsi di malattie o per incidere sul loro decorso (SIGU, 2016). La pubblicazione delle raccomandazioni dell'ACMG ha generato un acceso dibattito su più fronti (ACMG, 2013). La lista dei geni "actionable" è stata ampliata nel contesto di successive ricerche su ampie popolazioni (Amendola et al., 2015). Si stima che gli IF riguardino dall'1 al 5% circa dei pazienti che si sottopongono a esoma, a seconda del numero di geni in esame e di una serie di altri fattori. L'assenza di criteri di consenso per la classificazione di patogenicità delle varianti è una problematica tuttora irrisolta, che è ulteriormente aggravata da una notevole eterogeneità nei dati di letteratura riguardanti varianti e geni diversi e dall'imprecisione dell'assegnazione di patogenicità nei database come HGMD. Ne risulta la necessità di una revisione manuale da parte di personale biomedico esperto, inevitabilmente dispendiosa in termini di tempo e risorse. Una standardizzazione dei criteri consenso, che tenga conto di diversi elementi di supporto all'assegnazione di patogenicità, è già stata sollecitata (Amendola et al., 2015).

### *Costi*

All'inizio della diffusione delle tecnologie NGS, i costi erano approssimativamente proporzionali all'estensione del "target" genomico d'interesse. Pertanto, l'utilizzo di "pannelli genici" rispetto all'esoma o dell'esoma rispetto al genoma erano vantaggiosi principalmente per motivi economici. Negli anni, il divario nei costi si è progressivamente assottigliato, e il continuo avanzamento tecnologico (con il prossimo avverarsi del "genoma a 1000\$") sta progressivamente comprimendo i prezzi fino a rendere il fattore economico un elemento non

primario nella scelta tra pannelli di geni, esoma o genoma. Si noti, tuttavia, che i costi normalmente citati riguardano esclusivamente il lavoro di 'sequenziamento' ("dal DNA alle varianti"), non le risorse computazionali per l'immagazzinamento ("storage") e l'elaborazione dei dati né le competenze per la gestione bioinformatica, biomolecolare e clinica dei risultati (generazione, validazione, interpretazione e comunicazione dei risultati). Risulta pertanto evidente che, anche a fronte di un costante abbattimento dei prezzi, la gestione di centinaia/migliaia di esomi possa risultare problematica per un normale laboratorio biomedico, giustificando la scelta di optare per uno o più pannelli di geni. Fintanto che le nostre capacità di interpretazione clinica saranno fortemente limitate alle varianti codificanti, l'utilizzo del genoma potrebbe essere giustificato soltanto dalla più omogenea profondità di copertura ottenibile per mezzo del genoma rispetto all'esoma. Tuttavia, è importante ricordare che tale vantaggio è raggiungibile solo eseguendo un esperimento ad alta copertura (Lieleveld et al., 2015), con conseguente innalzamento dei costi di sequenziamento.



## **Conclusioni**

Negli ultimi venti anni sono stati fatti enormi progressi grazie allo sviluppo delle tecniche di genetica molecolare. Oltre alla continua scoperta di nuovi geni che sottendono le diverse forme di epilessia, le recenti individuazioni di mutazioni nei geni codificanti subunità di canali voltaggio-dipendenti del sodio, del potassio e del cloro, di recettori per l'acetilcolina e per il GABA stanno aumentando le nostre conoscenze di base sull'eziopatogenesi dell'epilettogenesi. Si intravedono importanti prospettive attraverso il disegno di nuovi farmaci mirati a specifici meccanismi patogenetici, oppure ad azione specifica su proteine mutate, fino ad una terapia genica sostitutiva nelle forme più gravi. Queste nozioni, inoltre, potrebbero portare a progressi nel campo della farmacogenomica, ossia nel prevedere la risposta del soggetto ad un trattamento, in termini sia di efficacia che di tollerabilità.

Il percorso clinico diagnostico per lo studio della genetica dell'epilessia è molto articolato, talora indaginoso e dispendioso in termini di tempo. Non va tuttavia dimenticato come proprio gli studi di genetica abbiano permesso in altri casi di definire condizioni cliniche complesse e non inquadrabili in sindromi specifiche, oppure categorizzare sottotipi peculiari. Pertanto il clinico non deve rinunciare ad approfondire la genetica dell'epilessia poiché essa sta diventando uno strumento sempre più importante e di valore, sia in termini di ricerca che di clinica consentendo una più accurata definizione diagnostica e prognostica e corroborando una più coerente scelta farmacologica. Poiché i risultati talvolta possono avere significato non univoco o ancora sconosciuto, occorre delucidare i contenuti del referto alla famiglia e per garantire la corretta gestione delle indagini genetiche nei pazienti con sindromi epilettiche è indispensabile una stretta collaborazione tra il genetista e l'epilettologo pediatra, che ha il compito di un lavoro clinico rigoroso, che comprenda la descrizione della semeiologia delle

crisi, l'analisi elettroencefalografica, le indagini di neuroimaging e la valutazione neuropsicologica. Le implicazioni terapeutiche degli studi genetici dell'epilessia sono ad oggi ancora piuttosto limitate. Tuttavia si intravedono importanti prospettive che possono derivare sia dalla valutazione dell'efficacia farmacologia in relazione, in particolare, al background genetico individuale, attraverso il disegno di nuovi farmaci ad azione specifica su proteine mutate, sia dalla prospettiva di applicare una terapia genica sostitutiva nelle forme più gravi. Ulteriori ricerche richiederà probabilmente un approccio interdisciplinare e una collaborazione internazionale, che unisce la ricerca di base con studi clinici.

**Tabella 1.** Valutazione del fenotipo clinico al fine di indirizzare lo studio genetico in persone con epilessia.

<b>Tipo di valutazione</b>	<b>Dettagli</b>
<b>Anamnesi familiare</b>	Pedigree (tre generazioni)
<b>Anamnesi personale</b>	Nascita Sviluppo psicomotorio Comorbidità neurologiche Comorbidità non neurologiche
<b>Esame clinico</b>	Esame fisico generale (foto) Esame obiettivo neurologico Valutazione cognitiva (QI)
<b>Caratteristiche del tipo di epilessia</b>	Esordio, tipo di crisi, fattori precipitanti, stati di male, risposta terapeutica
<b>Indagini strumentali</b>	EEG, neuroimaging

**Tabella 2.** Rischio cumulativo di epilessia in nel caso di un fratello o un figlio affetto.

	<b>Rischio di epilessia nei fratelli (%)</b>	<b>Rischio di epilessia nei figli (%)</b>
Rischio generale per crisi	11 %	14%
Rischio generale per epilessia	3.5%	3.5%
Età di inizio dell'epilessia		
< 15 aa	3-5 %	6%
> 15 aa	2-3%	2-3%
Sesso		
Madre con epilessia		8.7%
Padre con epilessia		2.4%
Eziologia dell'epilessia		
Sintomatica postnatale	1%	
Anossica con deficit neurologici	3%	
Tipo di crisi		
Parziale	2-3 %	2.7 %
Generalizzata (con tratto punta-onda)	5-6 %	3.3 %
Generalizzata (con punta-onda e risposta fotoparossistica)	8 %	NA
Assenze		9%
Probando con epilessia		
Con genitore affetto	8 %	
Con genitore affetto con tratto punta-onda	12 %	
Con tratto punta-onda anche nel fratello	15 %	
Rischio generale nella popolazione a sviluppare epilessia	1.1 %	
Rischio generale nella popolazione a presentare una crisi	4.1%	

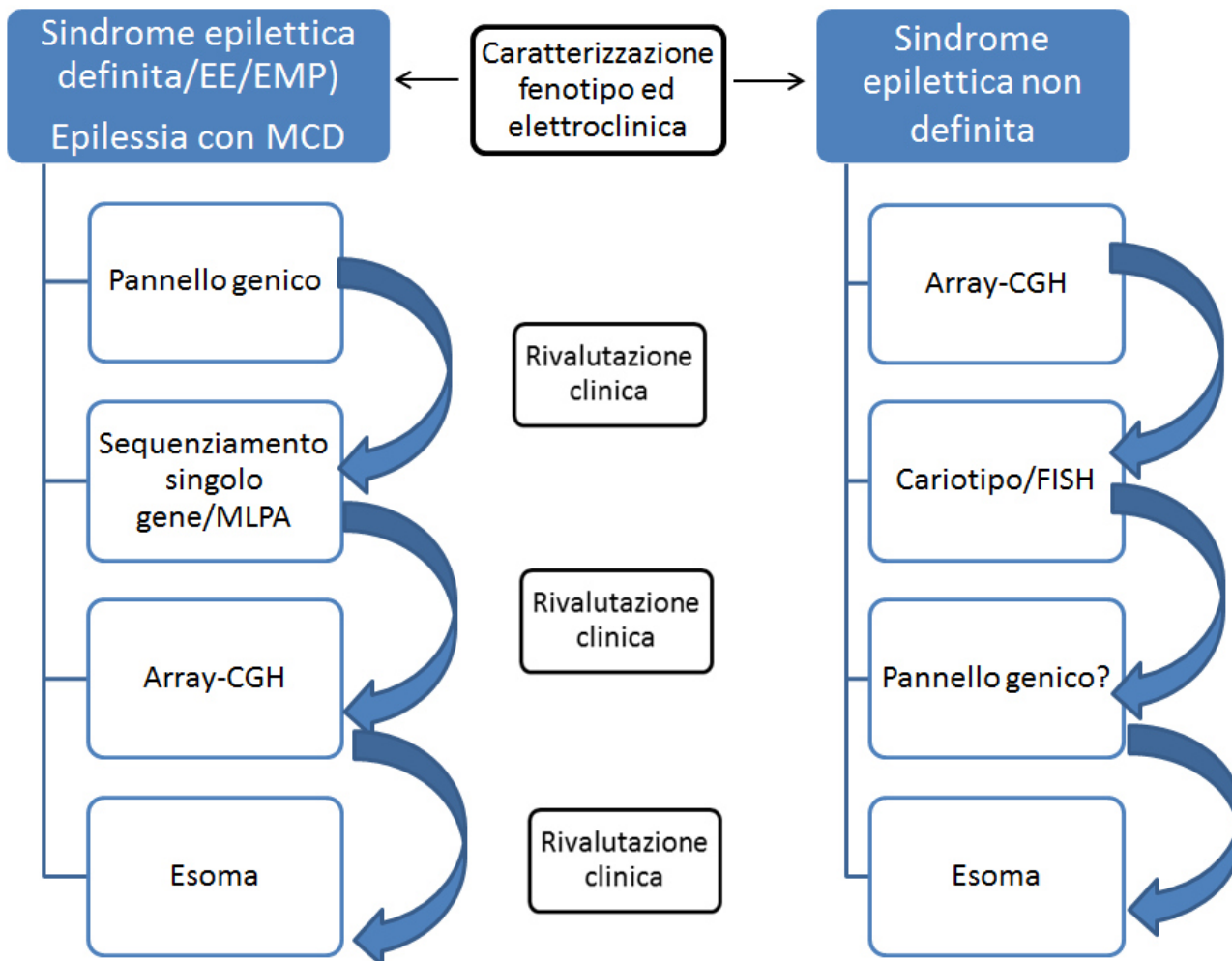
**Tabella 3.** Metodiche di indagine genetica nelle epilessie [da Olson 2014, modificato].

<b>Tipo di indagine</b>	<b>Descrizione</b>	<b>Quando utilizzarla</b>
Array-CGH	Si basa sull' ibridazione di DNA del paziente con quello di controllo su specifiche sonde. Impiegati sia per individuare polimorfismi di un singolo nucleotide (SNP arrays) o per determinare riarrangiamenti cromosomici submicroscopici (Array-CGH) come le CNVs in diversi loci contemporaneamente.	Soprattutto quando l'epilessia si associa a ritardo di sviluppo, autismo e/o dimorfismi.
Sequenziamento di singolo gene	Individua alterazioni nella sequenza delle basi azotate e se esse provocano alterazioni aminoacidiche	Quando si sospetta un'anomalia in un gene specifico (es. SLC2A1 per deficit di trasporto del glucosio)
Ricerca di duplicazioni/delezioni in un singolo gene	Valuta le CNV in un gene specifico	Quando si sospetta un'anomalia in un gene specifico ma il sequenziamento è negativo
Ricerca di una mutazione specifica	Sequenziamento per cercare una mutazione specifica	Sui genitori per determinare il significato di una mutazione ancora sconosciuta
<i>Panels</i> di geni associati ad una patologia (targeted-resequencing)	Sequenziamento ± ricerca duplicazioni/delezioni per un <i>panel</i> di geni	In disturbi associati a molti geni, come le encefalopatie epilettiche
Studi di metilazione	Valuta anomalie di metilazione in regioni cromosomiche specifiche	Sospetto di anomalie di metilazione, come la sindrome di Prader-Willi e Angelman
Fluorescent in situ hybridization (FISH)	Sonde che individuano specifiche regioni cromosomiche	Conferma di una delezione/duplicazione in regioni specifiche, es. 22q11
Cariotipo	Rappresentazione di tutte le coppie cromosomiche di una cellula	In pazienti con dimorfismi o anomalie congenite multiple; sospetto di monosomie, trisomie o riarrangiamenti cromosomici
Sequenziamento dell'intero esoma o genoma	Valuta alterazioni di sequenza e CNVs per l'intero esoma (solo sequenze codificanti) o genoma.	Quando c'è un forte sospetto di patologia genetica ma le indagini finora condotte non hanno portato risultati

**Tabella 4.** Applicazioni cliniche dei diversi approcci di NGS.

<b>Candidati all'analisi</b>	<b>Sanger</b>	<b>Pannello geni noti</b>	<b>WES</b>
Pazienti con epilessia genetica causata da mutazioni in uno o pochi geni noti (es. BFNS)	x		
Pazienti con sindromi epilettiche genetiche causate da mutazioni in molti geni diversi (alta eterogeneità genetica) (es. encefalopatie epilettiche)		x	
Pazienti con sindromi epilettiche geneticamente eterogenee negativi ai test di geni noti			x

**Tabella 5.** Esempio di approccio allo studio genetico nelle epilessie.



**Tabella 6.** Esempio di geni associati ad epilessie idiopatiche.

<b>Fenotipo</b>	<b>Gene</b>	<b>Gene OMIM</b>	<b>Approccio all'esame genetico</b>
Crisi neonatali familiari benigne (BFNS)	KCNQ2 KCNQ3	602235 602232	1. Pannello NGS per KCNQ2-KCNQ3 2. MLPA per KCNQ2-KCNQ3
Crisi neonatali-infantili familiari benigne (BFNIS)	SCN2A KCNQ2	182390 602235	1. Pannello NGS per SCN2A-KCNQ2 2. MLPA per SCN2A- KCNQ2
Crisi infantili familiari benigne (BFIS)	PRRT2 SCN2A KCNQ2 KCNQ3 CHRNA4	614386 182390 602235 602232 118504	1. Sequenziamento gene PRRT2 2. Pannello NGS per KCNQ2-KCNQ3-SCN2A-CHRNA4 3. MLPA per SCN2A - KCNQ2-KCNQ3- CHRNA4
Crisi infantili familiari benigne (BFIS) + discinesia kinesigenica parossistica (PKD)	PRRT2 SCN8A	614386 600702	1. Sequenziamento gene PRRT2 2. Sequenziamento gene SCN8A
GEFS+	SCN1A SCN2A SCN1B GABRG2 GABRD	182389 182390 600235 137164 137163	1. Pannello NGS per SCN1A, SCN2A, SCN1B, GABRG2 GABRD
Epilessia del lobo temporale laterale a trasmissione autosomica dominante (ADLTE)	LG1 RELN	604619 600514	2. Pannello NGS per LGI1- RELN 3. MLPA per LGI1- RELN
Epilessia frontale notturna a trasmissione autosomica dominante (ADNFLE)	CHRNA2 CHRNA2 CHRNB2 KCNT1 DEPDC5 NPRL3	118502 118507 118504 608167 614191 600928	1. Pannello NGS per CHRNA2-CHRNB2-CHRNA4-KCNT1-DEPDC5-NPRL3 2. MLPA per CHRNA2- CHRNB2-CHRNA4-KCNT1-DEPDC5-NPRL3



**Tabella 7.** Principali geni associati ad encefalopatie epilettiche (epilettogene).

<b>Sindrome - Tipo di crisi</b>	<b>OMIM</b>	<b>GENE</b>	<b>LOCUS</b>	<b>Trasmissione</b>
<b>SINDROME DI WEST SINDROME DI OHTAHARA</b>	EIEE1	<b>ARX</b>	Xp21.3	X-linked
<b>SPASMI INFANTILI E FENOTIPO RETT LIKE</b>	EIEE2	<b>CDKL5</b>	Xp22.13	X-linked
<b>SINDROME DI WEST SINDROME DI OHTAHARA</b>	EIEE3	<b>SLC25A22</b>	11p15.5	AR
<b>SINDROME DI WEST SINDROME DI OHTAHARA</b>	EIEE4	<b>STXBP1</b>	9q34.11	AD
<b>SINDROME DI WEST</b>	EIEE5	<b>SPTAN1</b>	9q34.11	AD
<b>SINDROME DI DRAVET</b>	EIEE6	<b>SCN1A SCN9A</b>	2q24.3	AD
<b>SINDROME DI OHTAHARA</b>	EIEE7	<b>KCNQ2</b>	20q13.33	AD
<b>RITARDO MENTALE ED EPILESSIA</b>	EIEE8	<b>ARHGEF9</b>	Xq11.1	X-Linked R
<b>EPILESSIA LIMITATA ALLE FEMMINE CON RITARDO MENTALE</b>	EIEE9	<b>PCDH19</b>	Xq22.1	X-Linked
<b>MICROCEFALIA, CRISI EPILETTICHE E RITARDO DELLO SVILUPPO</b>	EIEE10	<b>PNKP</b>	19q13.33	AR
<b>SINDROME DI OHTAHARA SINDROME DI DRAVET</b>	EIEE11	<b>SCN2A</b>	2q24.3	AD
<b>CRISI EPILETTICHE REFRATTARIE E REGRESSIONE IN TUTTE LE AREE DELLO SVILUPPO</b>	EIEE12	<b>PLCB1</b>	20p12.3	AR
<b>SINDROME DI DRAVET</b>	EIEE13	<b>SCN8A</b>	12q13.13	AD

<b>EPILESSIA PARZIALE MIGRANTE MALIGNA DELL'INFANZIA</b>	EIEE14	<b>KCNT1</b>	9q34.3	AD
<b>SINDROME DI WEST</b>	EIEE15	<b>ST3GAL3</b>	1p34.1	AR
<b>NELLE PRIME SETTIMANE DI VITA LE CRISI POSSONO ESSERE DI VARIO TIPO, POI EPILESSIA MIOCLONICA E REGRESSIONE DELLO SVILUPPO</b>	EIEE16	<b>TBC1D24</b>	16p13.3	AR
<b>NELLE PRIME SETTIMANE DI VITA CRISI ED ANOMALIE EEG, RITARDO DI SVILUPPO E ANOMALIE CEREBRALI</b>	EIEE17	<b>GNAO1</b>	16q13	AD
<b>ENCEFALOPATIA EPILETTICA INFANTILE CON DISMORFISMI DEL CORPO CALLOSO</b>	EIEE18	<b>SZT2</b>	1p34.2	AR
<b>SINDROME DI DRAVET</b>	EIEE19	<b>GABRA1</b>	5q34	AD
<b>SINDROME DA ANOMALIE CONGENITE MULTIPLE-IPOTONIA- CONVULSIONI DI TIPO 2 (MCAHS2)</b>	EIEE20	<b>PIGA</b>	Xp22.2	X-Linked R
<b>GRAVE RITARDO DELLO SVILUPPO, IPOTONO ASSIALE ED IPERTONO DISTALE, ATROFIA CEREBRALE</b>	EIEE21	<b>NECAP1</b>	12p13.31	AR
<b>DISORDINI CONGENITI DELLA GLICOSILAZIONE SINDROME DI WEST</b>	EIEE22	<b>SLC35A2</b>	Xp11.23	X-Linked D Somatic mosaicism
<b>ENCEFALOPATIA EPILETTICA E CECITÀ CORTICALE</b>	EIEE23	<b>DOCK7</b>	1p31.3	AR
<b>SINDROME DI DRAVET</b>	EIEE24	<b>HCN1</b>	5p12	AD
<b>CRISI CLONICHE FOCALI NEI PRIMI GIORNI DI VITA, SEGUITE DA CRISI POLIMORFE</b>	EIEE25	<b>SLC13A5</b>	17p13.1	AR
<b>DISABILITÀ INTELLETTIVA E IPSARITMIA ALL'EEG</b>	EIEE26	<b>KCNB1</b>	20q13.13	AD

<b>SINDROME DI WEST</b>	EIEE27	<b>GRIN2B</b>	12p13.1	AD
<b>CRISI FOCALI, MULTIFOCALI O GENERALIZZATE FARMACORESISTENTI, CON ETÀ DI ESORDIO MEDIA A DUE MESI</b>	EIEE28	<b>WVOX</b>	16q23.1-q23.2	AR
<b>ENCEFALOPATIA EPILETTICA CON DIFETTO DI MIELINIZZAZIONE</b>	EIEE29	<b>AARS</b>	16q22.1	AR
<b>ENCEFALOPATIA MIOCLONICA PRECOCE SINDROME DI OHTAHARA SPASMI INFANTILI</b>	EIEE30	<b>SIK1</b>	21q22.3	AD
<b>SPASMI EPILETTICI ASSENZE ATIPICHE</b>	EIEE31	<b>DNM1</b>	9q34.11	AD
<b>CRISI POLIMORFE DISABILITÀ INTELLETTIVA ATASSIA</b>	EIEE32	<b>KCNA2</b>	1p13.3	AD
<b>CRISI MIOCLONICHE PRECOCI DELL'INFANZIA</b>	EIEE33	<b>EEF1A2</b>	20q13.33	AD
<b>CRISI FOCALI MIGRANTI</b>	EIEE34	<b>SLC12A5</b>	20q13.12	AR
<b>MICROCEFALIA PROGRESSIVA, CRISI EPILETTICHE, DIFETTI CARDIACI, E MORTE PRECOCE</b>	EIEE35	<b>ITPA</b>	20p13	AR
<b>SPASMI INFANTILI SINDROME DI LENNOX-GASTAUT</b>	EIEE36	<b>ALG13</b>	Xq23	X-Linked R
<b>SPASMI EPILETTICI</b>		<b>CASK</b>	Xp11.4	X-Linked D
<b>AMPIA VARIABILITÀ FENOTIPICA CHE VA DA QUADRI DI CRISI NEONATALI FAMILIARI BENIGNE A QUADRI DI ENCEFALOPATIA EPILETTICA</b>		<b>KCNQ3</b>	8q24.22	AD
<b>DISORDINI DEL MOVIMENTO E CRISI POLIMORFE NEL PRIMO ANNO DI VITA</b>		<b>GRIN1</b>	9q34.3	IN CORSO

<b>EPILESSIA-AFASIA</b>		<b>GRIN2A</b>	16p13.2	AD
<b>SINDROME DI RETT</b>		<b>FOXP1</b>	14q12	AD
<b>SPASMI INFANTILI</b>		<b>MAGI2</b>	7q21.11	IN CORSO
<b>ENCEFALOPATIA EPILETTICA, ESORDIO NELL'INFANZIA, EPILESSIA MIOCLONICO-ATONICA</b>		<b>CHD2</b>	15q26.1	AD
<b>RIGIDITÀ E CRISI MULTIFOCALI, LETALITÀ NEONATALE</b>		<b>BRAT1</b>	7p22.3	AR
<b>ENCEFALOPATIA NEONATALE SEVERA SINDROME DI RETT</b>		<b>MECP2</b>	Xq28	X-Linked R

**Tabella 8.** Principali geni associati a malformazioni dello sviluppo corticale.

<b>GENE</b>	<b>MALFORMAZIONE DELLO SVILUPPO CORTICALE</b>	<b>MANIFESTAZIONI CLINICHE ASSOCIATE</b>	<b>EREDITARIETA'</b>
PIK3R2	Megalencefalia	Sindrome Megalencefalia-polimicrogiria-idrocefalo 1 (MPPH1)	Autosomica dominante, de novo
AKT3	Megalencefalia	Sindrome Megalencefalia-polimicrogiria-idrocefalo 2 (MPPH2)	Autosomica dominante, de novo (somatica)
CCND2	Megalencefalia	Sindrome Megalencefalia-polimicrogiria-idrocefalo 3 (MPPH3)	Autosomica dominante, de novo
EZH2	Megalencefalia	Sindrome di Weaver (WVS)	Autosomica dominante, de novo
PIK3CA	Megalencefalia	Sindrome Megalencefalia-malformazione capillare-polimicrogiria (MCAP) Sindrome lipomatosi congenite, malformazioni vascolare e nevi epidermici (CLOVE)	Autosomica dominante, de novo (somatica)
<b>ATP6V0A2</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Cutis laxa autosomica recessiva tipo IIA (ARCL2A) Wrinkly skin syndrome (WSS)	Autosomica recessiva
<b>B3GALNT2</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A11 (MDDGA11)	Autosomica recessiva
<b>POMGNT2</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A8 (MDDGA8)	Autosomica recessiva
<b>POMGNT1</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A3 (MDDGA3)	Autosomica recessiva
<b>FKRP</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A5 (MDDGA5)	Autosomica recessiva
<b>FKTN</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A4 (MDDGA4)	Autosomica recessiva
<b>B3GNT1</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Eterotopia nodulare	Distroglicanopatia tipo A13 (MDDGA13)	Autosomica recessiva
<b>ISPD</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A7 (MDDGA7)	Autosomica recessiva

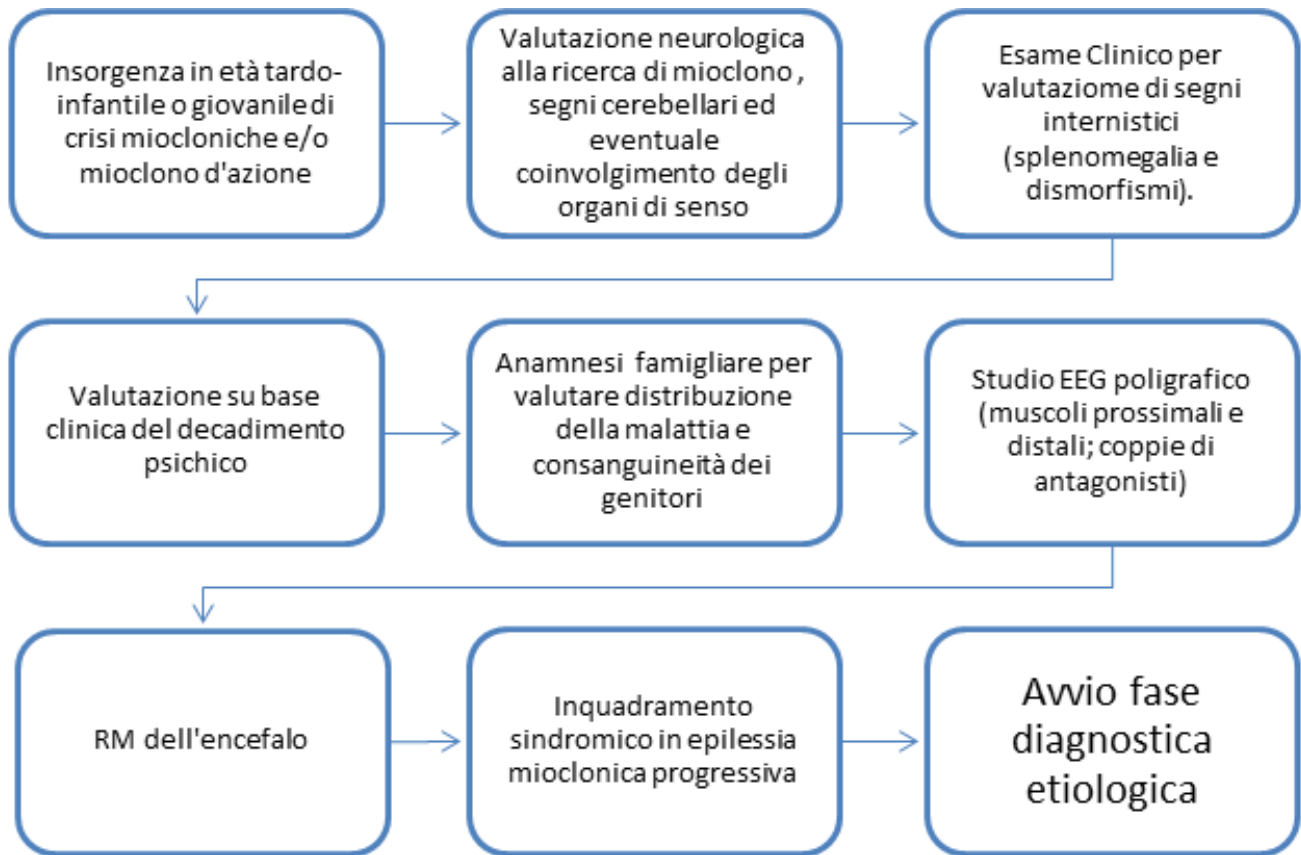
<b>LAMB1</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Eterotopia a bande sottocorticale	Ipoplasia cerebellare	Autosomica recessiva
<b>POMK</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A12 (MDDGA12)	Autosomica recessiva
<b>LARGE</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A6 (MDDGA6)	Autosomica recessiva
<b>POMT1</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A1 (MDDGA1)	Autosomica recessiva
<b>POMT2</b>	Malformazione tipo "Cobblestone" Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A2 (MDDGA2)	Autosomica recessiva
<b>TMEM5</b>	Malformazione tipo "Cobblestone"	Distroglicanopatia tipo A10 (MDDGA10)	Autosomica recessiva
<b>ACTB</b>	Lissencefalia	Sindrome Baraitser-Winter tipo 1 (BRWS1)	Autosomica dominante, de novo
<b>ACTG1</b>	Lissencefalia	Sindrome Baraitser-Winter tipo 2 (BRWS2)	Autosomica dominante, de novo
<b>ARX</b>	Lissencefalia	Agenesia del Corpo Calloso (ACC), Lissencefalia X-linked con genitali ambigui (XLAG)	X-linked recessiva
<b>RELN</b>	Lissencefalia	Ipoplasia cerebellare	Autosomica recessiva
<b>VLDLR</b>	Lissencefalia	Ipoplasia cerebellare	Autosomica recessiva
<b>PAFAH1B1 (LIS1)</b>	Lissencefalia	Lissencefalia tipo I Eterotopia sottocorticale laminare Sindrome Miller-Dieker	Autosomica dominante, de novo
<b>DYNC1H1</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia, Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>KIF5C</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia, Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>TUBA1A</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia, Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>TUBB</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia, Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>TUBB2B</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia, Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>WDR62</b>	Lissencefalia Polimicrogiria	Microcefalia	autosomica recessiva
<b>LAMC3</b>	Pachigyria Polimicrogiria	-	Autosomica recessiva

<b>SNAP29</b>	Pachigyria Polimicrogiria	Sindrome disgenesia cerebrale, neuropatia, ittiosi e keratoderma palmo-plantare (CEDNIK)	Autosomica recessiva
<b>GMPPB</b>	Polimicrogiria	Distroglicanopatia tipo A14 (MDDGA14)	Autosomica recessiva
<b>COL18A1</b>	Polimicrogiria	Sindrome Knobloch (KNO1)	Autosomica recessiva
<b>NDE1</b>	Polimicrogiria (diffusa)	Microcefalia	Autosomica recessiva
<b>KIAA1279</b>	Polimicrogiria (diffusa)	Sindrome Goldberg-Shprintzen (GOSHS)	Autosomica recessiva
<b>NSDHL</b>	Polimicrogiria (diffusa)	Sindrome CK Sindrome emidispasia congenita con nevi ittiosiformi e difetti degli arti (CHILD)	X-linked dominante, X- linked recessiva
<b>OCLN</b>	Polimicrogiria (diffusa)	Calcificazioni	Autosomica recessiva
<b>PAX6</b>	Polimicrogiria	Aniridia, microftalmia, agenesia del corpo calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>RAB3GAP1</b>	Polimicrogiria (frontale)	Sindrome Warburg Micro tipo 1 (WARBM1)	Autosomica recessiva
<b>RAB3GAP2</b>	Polimicrogiria (frontale)	Sindrome Warburg Micro tipo 2 (WARBM2)	Autosomica recessiva
<b>RAB18</b>	Polimicrogiria (frontale)	Sindrome Warburg Micro tipo 3 (WARBM3)	Autosomica recessiva
<b>TBC1D20</b>	Polimicrogiria (frontale)	Sindrome Warburg Micro tipo 4 (WARBM4)	Autosomica recessiva
<b>RTTN</b>	Polimicrogiria (diffusa)	-	Autosomica recessiva
<b>TUBA8</b>	Polimicrogiria	Agenesia del Corpo Calloso (ACC),agenesia del nervo ottico	Autosomica recessiva
<b>TUBB3</b>	Polimicrogiria	Microcefalia, agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>LAMA2</b>	Polimicrogiria	Deficit di Merosina tipo1A (MDC1A)	Autosomica recessiva
<b>GPR56</b>	Polimicrogiria (frontoparietale e perisilviana)	-	Autosomica recessiva
<b>SRPX2</b>	Polimicrogiria (perisilviana)	-	X-linked recessiva
<b>GPSM2</b>	Polimicrogiria (frontale) Eterotopia nodulare	Sindrome Chudley-McCullogh (CMCS)	Autosomica recessiva
<b>ARFGEF2</b>	Eterotopia nodulare periventricolare	Microcefalia	Autosomica recessiva
<b>DCHS1</b>	Eterotopia nodulare periventricolare	Sindrome Van Maldergem tipo 1 (VMLDS1)	Autosomica recessiva
<b>EML1</b>	Eterotopia nodulare	Agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica recessiva

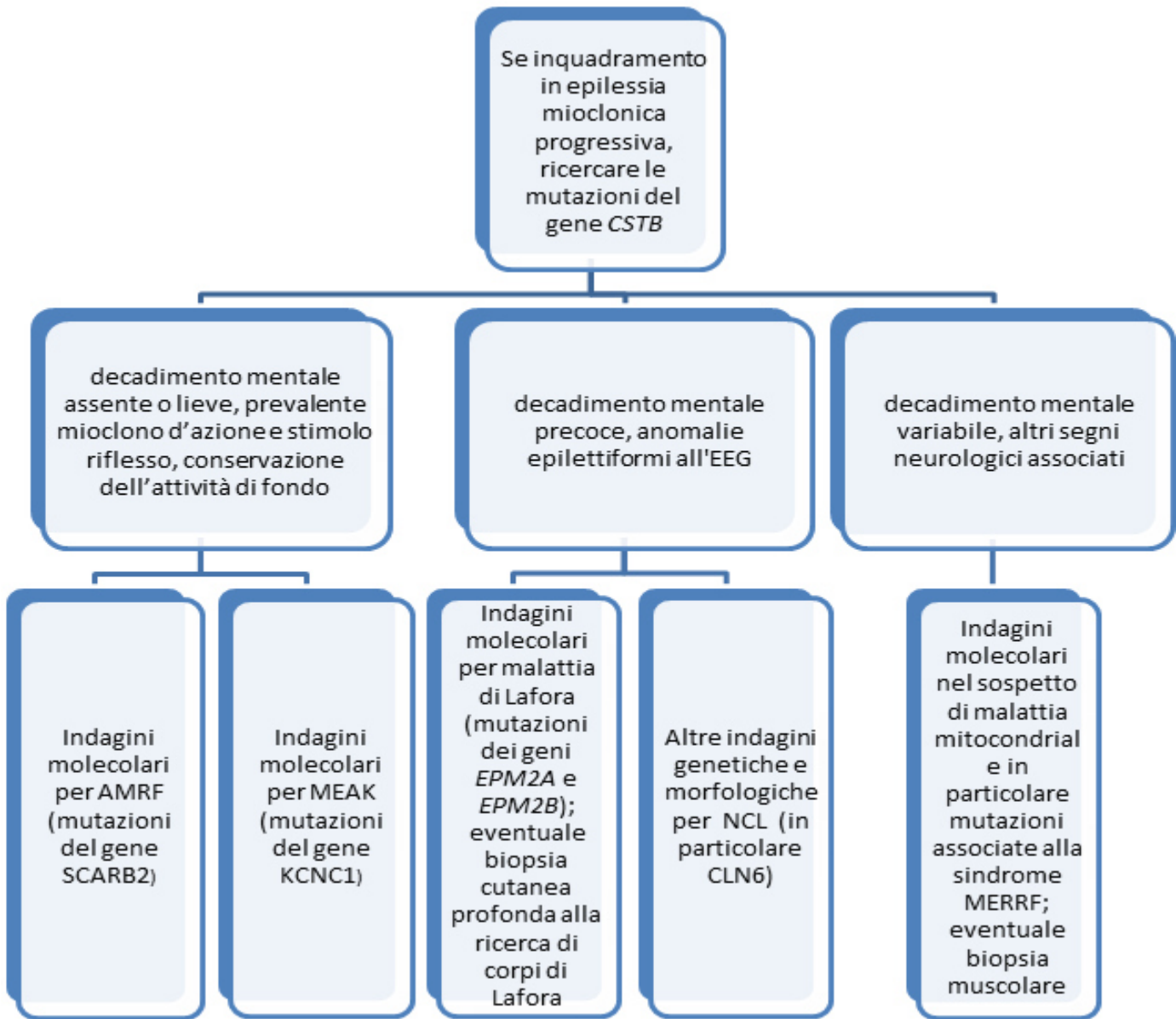
	periventricolare		
<b>ERMARD</b>	Eterotopia nodulare periventricolare	Sindrome 6q-	Autosomica dominante, de novo
<b>FAT4</b>	Eterotopia nodulare periventricolare Polimicrogiria	Sindrome Van Maldergem syndrome tipo 2 (VMLDS2)	Autosomica recessiva
<b>FLNA</b>	Eterotopia nodulare periventricolare	-	X-linked dominante
<b>MEF2C</b>	Eterotopia nodulare periventricolare	Ipotonia, tratti autistici	Autosomica dominante, de novo
<b>TUBG1</b>	Lissencefalia Eterotopia a bande sottocorticale	Microcefalia, anomalie del Corp Calloso	Autosomica dominante, de novo
<b>KIF2A</b>	Lissencefalia Eterotopia a bande sottocorticale	Microcefalia, agenesia del Corpo Calloso (ACC)	Autosomica dominante, de novo
<b>DCX</b>	Lissencefalia Eterotopia a bande sottocorticale	-	X-linked Recessiva, X-linked dominante
<b>CNTNAP2</b>	Displasia corticale isolata	Sindrome displasia corticale-epilessia (CDFES)	Autosomica recessiva



**Tabella 9.** Iter per l'inquadramento sindromico delle Epilessie Miocloniche Progressive.



**Tabella 10.** Fase diagnostica etiologica delle epilessie miocloniche progressive.



**Tabella 11.** Principali geni associati a epilessia mioclonica progressiva.

MALATTIA	GENE	LOCUS	EREDITARIETA'
Malattia di Unverricht-Lundborg	<i>CSTB (EPM1A)</i>	21q22.3	Recessiva
Malattia di Lafora	<i>EPM2A</i>	6q24	Recessiva
	<i>EPM2B (NHLRC1)</i>	6p22	Recessiva
Myoclonus-Epilepsy with Ragged Red Fibers (MERRF)	<i>MTTK</i>	DNA mitocondriale	Matrilineare
Juvenile Huntington disease	<i>HTT</i>	4p16.3	Dominante
Sialidosi	<i>NEU1</i>	6q21.33	Recessiva
Action myoclonus renal failure (AMRF)	<i>SCARB2</i>	4q21.1	Recessiva
Ceroido-lipofuscinosi neuronale dell'adulto (malattia di Kufs)	<i>CLN6</i>	15q23	Recessiva
Malattia di Niemann-Pick	<i>NPC1</i>	18q11.2	Recessiva
Gaucher III	<i>GBA</i>	1q21	Recessiva
EPM1B	<i>PRICKLE1</i>	12q12	Recessiva
EPM8	<i>CERS1 (LASS1)</i>	19p13.11	Dominante
North Sea progressive myoclonus epilepsy	<i>GOSR2</i>	17q21.32	Recessiva
EPM3	<i>KCTD7</i>	7q11.21	Recessiva
MEAK	<i>KCNC1</i>	11p15.1	Dominante
Atassia spastica con PME/SCA28	<i>AFG3L2</i>	18p11.21	Recessiva

**Tabella 12.** Strategie terapeutiche “personalizzate” in base al difetto genetico.

---

<b>GENE</b>	<b>STRATEGIA TERAPEUTICA</b>
<i>SLC2A1</i> (deficit GLUT1)	dieta chetogena
<i>SCN1A</i>	evitare farmaci sodio-bloccanti (CBZ, PHT)
<i>SCN2A/SCN8A</i> (GOF):	Potenziata efficacia prediligere farmaci sodio-bloccanti (da evitare se c'è LOF di <i>SCN2A/SCN8A</i> )
<i>KCNQ2</i>	Potenziata efficacia prediligere farmaci sodio-bloccanti od retigabina
<i>KCNT1</i>	Potenziata efficacia di quinidina
<i>GRIN2A/2B</i> (NMDA-R GOF):	Potenziata efficacia memantina
<i>KCNA2</i> (GOF):	Potenziata efficacia 4-aminopiridina (bloccante Kv1)

---

**LEGENDA:** GOF: gain of function; LOF loss of function

## ***Bibliografia***

- Amendola LM, et al. Actionable exomic incidental findings in 6503 participants: challenges of variant classification. *Genome Res* 2015; 25:305–315.
- Anderson VE, Rich SS, Hauser WA, Wilcox HJ, Family studies in epilepsy In: Anderson VE, Hauser WA, Leppik IE, Noebels JL, Rich SS, Eds, 'Genetic strategies in epilepsy research. Elsevier Science Publ 1991, pp 89-104.
- Andrade DM, Minassian BA. Genetics of epilepsies. *Expert Rev Neurother.* 2007;7(6):727-34.
- Aridon P, et al. Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor alpha 2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *Am J Hum Genet.* 2006;79(2):342-50
- Arsov T, et al. Early onset absence epilepsy: 1 in 10 cases is caused by GLUT1 deficiency. *Epilepsia.* 2012 Dec;53(12):e204-7. 25.
- Barkovich AJ, et al. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update. *Brain* 2012; 135:1348–1369.
- Baulac S, et al. Familial Focal Epilepsy with Focal Cortical Dysplasia due to DEPDC5 Mutations. *Annals of Neurology* 2015; 77: 675–83.
- Baumgart A, et al. Atypical vitamin B6 deficiency: a rare cause of unexplained neonatal and infantile epilepsies. *J Child Neurol* 2014; 29:704–707.
- Berg AT, 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;51(4):676-85.
- Berg JS, et al. Processes and preliminary outputs for identification of actionable genes as

incidental findings in genomic sequence data in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. *Genetics in Medicine* 2013; 15(11), 860-867.

- Berkovic SF, Scheffer IE. Febrile seizures: genetics and relationship to other epilepsy syndromes. *Curr Opin Neurol* 1998; 11: 129-34.
- Bianchi A. Definition of the phenotype for genetic studies. Chapter 5. In: *Perinatal Brain Damage: from Pathogenesis to Neuroprotection*. Ramenghi, Evrard, Mercuri eds, 2009 John Libbey Eurotext, 1-12.
- Bisulli F, et al. A de novo LGI1 mutation in sporadic partial epilepsy with auditory features. *Ann. Neurol* 2004; 56: 455-456.
- Chung WH, al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature*. 2004;428:486.
- Dazzo E, et al. Heterozygous reelin mutations cause autosomal-dominant lateral temporal epilepsy. *Am J Hum Genet*. 2015;96(6):992-1000.
- de Kovel CG et al. Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies. *Brain* 2010; 133:23 – 32;
- Dibbens LM, et al. Mutations in DEPDC5 cause familial focal epilepsy with variable foci. *Nat Genet* 2013; 45:546–551.
- Epilepsy Phenome/Genome Project & Epi4K Consortium. Copy number variant analysis from exome data in 349 patients with epileptic encephalopathy. *Ann Neurol* 2015; 78: 323–8.
- Franceschetti S, et al. Progressive myoclonic epilepsies: definitive and still undetermined causes. *Neurology*. 2014;82:405-11.

- Gardella E, et al. Benign infantile seizures and paroxysmal dyskinesia caused by an SCN8A mutation. *Ann Neurol.* 2016;79(3):428-36.
- Grinton BE, et al. Familial neonatal seizures in 36 families: Clinical and genetic features correlate with outcome. *Epilepsia* 2015;56(7):1071-80.
- Gruppo di Lavoro in Citogenetica SIGU, 2013; Linee guida per la diagnosi citogenetica, [www.sigu.net](http://www.sigu.net)
- Gobbi G et al, *Prospettive in Pediatria* 2014; 44: 226-39.
- Green RC, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in Medicine* 2013; 15(7), 565-574.
- Guerrini R, Dobyns WB. Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. *Lancet Neurol* 2014; 13:710–726.
- Heron SE, et al. Missense mutations in the sodium-gated potassium channel gene KCNT1 cause severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet.* 2012;44(11):1188-90.
- Jamuar SS, et al. Somatic mutations in cerebral cortical malformations. *N Engl J Med* 2014; 371:733–743.
- Klepper J. GLUT1 deficiency syndrome in clinical practice. *Epilepsy Research* 2012;100:272-277
- Korenke GC, et al. Nocturnal frontal lobe epilepsy caused by a mutation in the GATOR1 complex gene NPRL3. *Epilepsia.* 2016;57(3):e60-3.
- Kuzniecky R. Epilepsy and malformations of cortical development: new developments. *Curr Opin Neurol* 2015, 28:151–157
- Lemke et al. Mutations in GRIN2A cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes. *Nat*

Genet. 2013;45(9):1067-72.

- Lohn Z, et al. Genetics professionals' perspectives on reporting incidental findings from clinical genome-wide sequencing. *American Journal of Medical Genetics Part A*; 2013; 161(3), 542-549.
- McCormack M, et al. HLA-A\*3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans. *N Engl J Med*. 2011;364:1134-43.
- Mantegazza M et al. Epileptogenic ion channel mutations: from bedside to bench and, hopefully, back again. *Epilepsy Res*. 2010;92(1):1-29.
- Mefford HC et al. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000962.
- Michelucci R, et al. Low penetrance of autosomal dominant lateral temporal epilepsy in Italian families without LGI1 mutations. *Epilepsia* 2013; 54: 1288-1297.
- Mirzaa GM, et al. Megalencephaly-capillary malformation (MCAP) and megalencephaly-polydactylypolymicrogyria-hydrocephalus (MPPH) syndromes: two closely related disorders of brain overgrowth and abnormal brain and body morphogenesis. *Am J Med Genet A* 2012; 158A: 269–91.
- Møller RS, et al. The contribution of next generation sequencing to epilepsy genetics. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15(12):1531-8.
- Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Med*. 2015;7(1):91.
- Nicita F, et al. The genetics of monogenic idiopathic epilepsies and epileptic encephalopathies. *Seizure* 2012;21(1):3-11.
- Nieh SE, Sherr EH. Epileptic Encephalopathies: new genes and new pathways.



Neurotherapeutics 2014;11(4):796-806.

- Olson H, et al. Copy number variation plays an important role in clinical epilepsy. *Ann Neurol* 2014; 75: 943 – 58.
- Ottman R, et al. LGI1 mutations in autosomal dominant partial epilepsy with auditory features. *Neurology* 2004; 62:1120-1126.
- Pascual JM, et al. Triheptanoin for glucose transporter type I deficiency (G1D): Modulation of human ictogenesis, cerebral metabolic rate and cognitive indices by a food supplement. *JAMA Neurol* 2014;71(10):1255-1265.
- Pearl PL, Yuezhou Y. Inherited pediatric metabolic epilepsies. *Expert Opinion on Orphan Drugs* 2013;1(2):115-129.
- Pearson TS, et al. Phenotypic Spectrum of Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome (Glut1 DS). *Curr Neurol Neurosci Rep* 2013;13:342
- Pisano T, et al. Early and effective treatment of KCNQ2 encephalopathy. *Epilepsia*. 2015;56(5):685-91.
- Rivière JB, et al. De novo germline and postzygotic mutations in AKT3, PIK3R2 and PIK3CA cause a spectrum of related megalencephaly syndromes. *Nat Genet* 2012; 44: 934–40.
- Sadowski K, et al. Role of mTOR inhibitors in epilepsy treatment. *Pharmacol Rep*. 2015;67(3):636-46.
- Shahwan A, et al. Progressive myoclonic epilepsies: a review of genetic and therapeutic aspects. *Lancet Neurol* 2005; 4:239-248

- Società Italiana di Genetica Umana (2016). Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico. Documento Commissione SIGU-NGS. <http://www.sigu.net/show/documenti/5/1/linee%20guida>.
- Striano P et al. Clinical significance of rare copy number variations in epilepsy: a case-control survey using microarray-based comparative genomic hybridization. *Arch Neurol* 2012; 69: 322-30.
- Striano P. *Epilepsy Towards the Next Decade - New Trends and Hopes in Epileptology*. - Springer. Striano P (Ed.), Springer Science+Business Media, 2015.
- Striano P, et al. Management of genetic epilepsies: From empirical treatment to precision medicine. *Pharmacol Res*. 2016 11;107:426-429.
- Suzuki T et al. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet*. 2004;36(8):842-9.
- Trivisano M, et al. Mutation of CHRNA2 in a family with benign familial infantile
- Tinuper P, et al. Definition and diagnostic criteria of sleep-related hypermotor epilepsy. *Neurology*. 2016;86(19):1834-1842
- seizures: Potential role of nicotinic acetylcholine receptor in various phenotypes of epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56(5):e53-7.
- van Vliet R, et al. PRRT2 phenotypes and penetrance of paroxysmal kinesigenic dyskinesia and infantile convulsions. *Neurology*. 2012;79(8):777-84.
- Zara F, et al. Genetic testing in benign familial epilepsies of the first year of life: clinical and diagnostic significance. *Epilepsia*. 2013;54(3):425-36.