

**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Pediatria Salus Pueri

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN:
MEDICINA DELLO SVILUPPO E SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE
INDIRIZZO: MALATTIE RARE
CICLO: XXII**

**VALUTAZIONE DEL RUOLO DEI GENI ARX E CDKL5
NELLE ENCEFALOPATIE EPILETTICHE AD EZIOLOGIA SCONOSCIUTA
CON INSORGENZA NEL PRIMO ANNO DI VITA**

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

Coordinatore di Indirizzo: Ch.mo Prof. Giorgio Perilongo

Supervisore: Ch.ma Prof.ssa Anna Maria Laverda

Dottorando: Stefano Sartori

Ad Angela, Anna e Linda

INDICE

SUMMARY

SOMMARIO

1. INTRODUZIONE

1.1 Le encefalopatie epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita: le forme sindromiche riportate nella classificazione ILAE 2006

1.2 I geni *ARX* e *CDKL5* ed i fenotipi associati

1.2.1 Il gene *ARX* ed i fenotipi associati: overview

1.2.2 Il gene *CDKL5* ed i fenotipi associati: overview

2. OBIETTIVO

3. PAZIENTI E METODI

3.1 Reclutamento dei pazienti

3.2 Analisi molecolare

3.3 Caratterizzazione fenotipica

4. RISULTATI

4.1 RISULTATI DELLO SCREENING MUTAZIONALE DEL GENE *CDKL5* NEL CAMPIONE RECLUTATO

4.1.1 Breve descrizione clinica dei singoli soggetti identificati con mutazione-malattia del gene *CDKL5*

4.1.2 Sinossi degli aspetti fenotipici comuni dei soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene *CDKL5*

4.2 RISULTATI DELLO SCREENING MUTAZIONALE DEL GENE *ARX* NEL CAMPIONE RECLUTATO

4.2.1 Breve descrizione clinica dei singoli soggetti identificati con mutazione-malattia del gene *ARX*

4.2.2 Sinossi degli aspetti fenotipici comuni dei soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene *ARX*

5. DISCUSSIONE

6. CONCLUSIONE

BIBLIOGRAFIA

APPENDICE

RINGRAZIAMENTI

SUMMARY

Introduction

Epileptic encephalopathies starting within the first year of life are a group of etiologically and clinically heterogeneous disorders in which cognitive, sensory, and/or motor functions deteriorate mainly as a consequence of epileptic activity. Many etiological factors including hereditary and non-hereditary conditions have been reported. However, in up to a third of all cases determining the underlying cause is not possible. Recently the *CDKL5* and *ARX* genes have been found to be involved in the pathogenesis of refractory early onset epilepsy, in neurologically delayed patients.

Objective

To investigate the pathogenic role of *CDKL5* and *ARX* in epileptic encephalopathy of unknown aetiology starting within the first year of life and to characterize the electroclinical picture associated with mutations of these genes.

Patients and Methods

Eighty patients (40 females and 40 males, including two related boys, born to asymptomatic monozygotic twin sisters) with epileptic encephalopathy of unknown aetiology, with onset in the first year of life, were recruited and screened for mutations in the *CDKL5* and *ARX* genes by DHPLC and direct sequence analysis. Retrospective clinical, neurological and epileptological data, and EEG recordings were collected and comprehensively evaluated.

Results

Six novel *de novo* *CDKL5* pathogenic mutations (3 missense; 2 nonsense; 1 frameshift mutations) were found in five females and in one 47,XXY male, for an overall mutation rate of 8% which, in female patients alone, account for a prevalence of 12,5%. Three male subjects, including a sporadic case and the two related boys, were found to carry two different, previously unreported, missense mutations of the *ARX* gene, accounting for a mutation rate of 7,5 %

among the male patients of our cohort and demonstrating that mutations of the *ARX* gene, other than expansions of the polyalanine tracts, are involved in the pathogenesis of the epileptic encephalopathies.

Assessment of the electroclinical profile in our patients with *CDKL5* mutations (mean age: 5,8 years, ranging from 15 months to 11 years) showed the following features:

a) early onset epilepsy (1-16 weeks of life) (6/6) in neurologically delayed girls with axial hypotonia and poor eye contact (6/6); frequent *ab initio* mixture of two or more types of seizures sometimes associated in the same event, such as spasms (4/6), myoclonias (4/6), focal seizures (3/6), and apparently generalized tonic or tonic-clonic seizures (2/6);

b) normal background activity on EEG at the onset of epilepsy (6/6), with presence of focal or multifocal interictal epileptiform and slow abnormalities (4/6);

c) unremarkable brain imaging (6/6);

d) subsequent progressively deterioration of the EEG background activity (6/6) and appearance - usually within the first two years of life - of an unusual electrical pattern characterized by high/very high amplitude more or less diffuse theta (4/6) or delta (1/6) activity with superimposed, often subcontinuous, multifocal high amplitude abnormalities (5/6) with tendency to become synchronous (4/6);

e) at the same time, increased frequency and persistence of multiple types of seizures, mainly tonic (3/6) and spasms (5/6), that, along with the increased EEG paroxysmal activity, contributed to the neurodevelopmental stagnation or regression (6/6), configuring an epileptic encephalopathy.

All these aspects collectively represent the earliest key clinical features that we have identified as a clear indication for *CDKL5* molecular analysis.

The possible appearance of Rett-like clinical features, such as stereotypies (5/6) or autonomic dysfunctions (1/6), and the possible evolution to a

myoclonic epileptic encephalopathy with pseudoperiodic bursts of abnormalities (3/6), represent further, but fairly late aspects that orient the diagnosis.

The three patients with *ARX* mutations (mean age: 7 years, ranging from 2 to 16 years) displayed at onset early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst (EIEE), known as Ohtahara Syndrome. In the neonatal period (3/3), they presented a typical EEG pattern characterized by bursts of paroxysmal activity separated by episodes of flat or low amplitude tracing (3/3). Spasms or tonic spasms (2/3) were the main types of seizures at onset, in association with focal hemiclonic seizures (1/3), tonic seizures (1/3) and massive (1/3) or erratic myoclonias (1/3). A transition from EIEE into atypical West Syndrome (3/3), was followed, in the oldest patient of our series, by evolution into a Lennox-Gastaut-like syndrome. A severely compromised neurodevelopment (3/3) with profound mental retardation (3/3), absence of social skill (3/3) and tetra paresis (3/3) were evident at follow up, whereas longitudinal imaging showed brain atrophy (3/3).

Conclusions

Our data confirm the pivotal role of *CDKL5* and *ARX* mutations in the pathogenesis of epileptic encephalopathies in infancy and identify early key clinical and EEG phenotypical features. With the aid of these tools, in the clinical setting, molecular analysis of these two genes, *CDKL5* for females and *ARX* for males, should be considered in neurologically compromised neonates and infants, with early onset severe, otherwise unexplained, epilepsy.

SOMMARIO

Introduzione

Le encefalopatie epilettiche ad esordio nel primo anno di vita sono un gruppo clinicamente ed eziologicamente eterogeneo di disordini in cui le funzioni cognitive, sensoriali, e/o motorie si deteriorano principalmente a causa dell'attività epilettica. Numerosi sono i fattori eziologici che sono stati riportati, incluse condizioni ereditarie e non ereditarie. Comunque, in quasi un terzo dei casi non è possibile identificare una causa sottostante. Recentemente è stato segnalato il coinvolgimento dei geni *CDKL5* ed *ARX* nella patogenesi dell'epilessia refrattaria ad esordio precoce, in bambini neurologicamente compromessi.

Obiettivi

Investigare il ruolo patogenetico di *CDKL5* ed *ARX* nelle encefalopatie epilettiche ad eziologia sconosciuta con esordio nel primo anno di vita e caratterizzare i quadri elettroclinici associati con mutazioni di tali geni.

Pazienti e metodi

Sono stati reclutati ed analizzati per mutazioni di *CDKL5* ed *ARX*, mediante DHPLC e sequenziamento diretto, ottanta pazienti (40 femmine e 40 maschi, inclusi 2 cugini, nati da madri asintomatiche gemelle monozigoti) con encefalopatia epilettica ad eziologia sconosciuta con esordio durante il primo anno di vita. I dati clinici, neurologici, epilettologici e le registrazioni EEG sono stati retrospettivamente raccolti e globalmente valutati.

Risultati

Sono state identificate 6 nuove mutazioni patogenetiche *de novo* di *CDKL5* (3 missense; 2 nonsense; 1 frameshift) in 5 femmine e in un maschio 47,XXY, per un tasso complessivo di mutazione pari all'8%, ovvero una prevalenza del 12,5 % se si considerano solamente le femmine. In tre soggetti maschi, tra cui un caso sporadico ed i due cugini, sono state identificate due nuove diverse mutazioni missense del gene *ARX* (per un tasso di mutazione pari a 7,5%

considerando esclusivamente i soggetti maschi della nostra coorte), dimostrando che mutazioni di *ARX*, diverse dalle espansioni dei tratti polialaninici, possono essere coinvolte nella patogenesi delle encefalopatie epilettiche.

La valutazione del profilo elettroclinico dei nostri pazienti con mutazioni del gene *CDKL5* (età media: 5,8 anni, range 15 mesi - 11 anni) ha evidenziato le seguenti caratteristiche:

a) esordio precoce di epilessia (1-16 settimane di vita) (6/6) in bambini neurologicamente compromessi con ipotonia assiale e scarso contatto visivo (6/6); frequente commistione *ab initio* di più tipi di crisi, talora associate nel medesimo evento, quali spasmi (4/6), mioclonie (4/6), crisi focali (3/6), e crisi tonico o tonico cloniche apparentemente generalizzate (2/6);

b) normale attività di fondo all'EEG all'esordio (6/6) con presenza di anomalie intercritiche epilettiformi o lente, focali o multifocali (4/6);

c) neuroimaging non significativo (6/6);

d) successivo progressivo deterioramento dell'attività EEG di fondo (6/6) e comparsa - generalmente entro il secondo anno di vita - di un pattern elettrico inusuale caratterizzato da un'attività theta (4/6) o delta (1/6) di ampio/amplissimo voltaggio, più o meno diffusa, con sovrascritte, spesso subcontinue, anomalie multifocali ampie (5/6) con tendenza a divenire sincrone (4/6);

e) contemporaneo incremento in frequenza e persistenza di più tipi di crisi, principalmente crisi toniche (3/6) e spasmi (5/6), che, assieme all'aumento dell'attività EEG parossistica, contribuivano alla stagnazione o regressione dello sviluppo neurologico (6/6), configurando un'encefalopatia epilettica.

Tutti assieme questi aspetti costituiscono le più precoci caratteristiche cliniche che abbiamo identificato come una chiara indicazione all'analisi molecolare di *CDKL5*.

La possibile comparsa di caratteristiche cliniche Rett-like, quali stereotipie (5/6) o disfunzioni autonome (1/6), e la possibile evoluzione verso un'encefalopatia mioclonica con burst pseudoperiodici di anomalie (3/6), rappresentano ulteriori, ma un po' tardivi, aspetti che orientano la diagnosi.

I tre pazienti identificati con mutazioni del gene *ARX* (età media: 7 anni, range 2 - 16 anni) presentavano all'esordio una early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst (EIEE), nota come Sindrome di Ohtahara. Nel periodo neonatale (3/3), era presente un pattern caratterizzato da burst di attività parossistica separata da episodi di appiattimento o attenuazione in voltaggio del tracciato (3/3). Spasmi o crisi toniche (2/3) costituivano il principale tipo di crisi all'esordio, in associazione con crisi emicloniche (1/3), toniche (1/3) e mioclonie massive (1/3) o erratiche (1/3). Una transizione da EIEE a Sindrome di West atipica (3/3), era seguita, nel paziente più vecchio della nostra serie, da un'evoluzione verso una sindrome di Lennox-Gastaut-like. Uno sviluppo neurologico severamente compromesso (3/3) con ritardo mentale profondo (3/3), assenza di abilità sociali (3/3) e tetraparesi (3/3) erano evidenti al follow up, mentre i controlli neuroradiologici mostravano atrofia cerebrale (3/3).

Conclusioni

I nostri dati confermano il ruolo cruciale di mutazioni dei geni *CDKL5* e *ARX* nella patogenesi delle encefalopatie epilettiche dell'infanzia ed identificano delle caratteristiche fenotipiche chiave, sia cliniche che EEG. Con l'aiuto di questi strumenti, l'analisi molecolare di questi due geni (*CDKL5* per le femmine ed *ARX* per i maschi) dovrebbe essere presa in considerazione, nella pratica clinica, in neonati e lattanti neurologicamente compromessi, con epilessia severa ad esordio precoce, altrimenti non spiegata.

1. INTRODUZIONE

Le encefalopatie epilettiche, secondo la definizione di Dulac del 2001, sono un ampio gruppo di condizioni cliniche in cui le funzioni cognitive, sensoriali e/o motorie si deteriorano come conseguenza dell'attività epilettica, costituita da frequenti crisi e/o da importante attività parossistica cosiddetta intercritica (*Dulac et al. 2001*). Si tratta di un gruppo eziologicamente composto di situazioni in cui spesso anche la patologia sottostante è coinvolta nel determinare la compromissione neurologica. In tale prospettiva è stata formulata da Engel nel 2001, e successivamente rivista nel 2006, una diversa definizione di encefalopatia epilettica, intesa come una condizione in cui il processo epilettico in sé è ritenuto contribuire al disturbo della funzione cerebrale (*Engel 2001, 2006*), rispetto al quale anche la patologia sottostante può svolgere un ruolo preminente (*Dravet 2009*).

Numerose sono le sindromi epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita - definite e riportate nella classificazione ILAE delle sindromi epilettiche (*Engel 2001, 2006*) - che configurano un quadro di encefalopatia epilettica: la Sindrome di Ohtahara, l'encefalopatia mioclonica precoce, l'epilessia parziale migrante dell'infanzia, la Sindrome di West, la Sindrome di Dravet, e lo stato mioclonico in encefalopatie non progressive. Vi è però una quota di bambini che - pur presentando un'epilessia ad esordio nel primo anno di vita configurante un quadro clinico di encefalopatia epilettica - non può essere inquadrata in nessuna di queste forme sindromiche.

Per quanto riguarda l'aspetto eziologico, numerose ed eterogenee sono le cause identificabili alla base delle encefalopatie epilettiche del primo anno di vita, acquisite e genetiche (malformative, non malformative, metaboliche,...). Comunque, anche per quanto riguarda l'inquadramento eziologico, non sempre risulta possibile identificare e riconoscere una causa o una malattia

neurologica sottostanti l'encefalopatia epilettica. A tale proposito si tenga presente che - considerando semplicemente la Sindrome di West, di gran lunga la più frequente encefalopatia epilettica dell'infanzia - in circa il 30% dei soggetti affetti non è possibile formulare una diagnosi eziologica (*Primec et al. 2002; Roger et al. 2005*). E tale dato è pressoché sovrapponibile a quello della casistica del Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova relativa a tutte le encefalopatie epilettiche seguite dal 1998 al 2008 (*Sartori e Boniver 2008, dati non pubblicati*).

In quest'ottica molto interessanti risultano le recenti e crescenti segnalazioni del coinvolgimento dei geni *ARX* e *CDKL5* nella patogenesi di disordini neurologici, ad insorgenza precoce, caratterizzati dall'associazione di ritardo mentale ed epilessia, spesso severa e tale da configurare un quadro di encefalopatia epilettica (*Scheffer et al. 2002; Kato 2006; Archer et al. 2006; Buoni et al 2006; Bahi-Buisson et al. 2008a*). Mutazioni a carico di tali geni potrebbero, infatti, rendere conto di una quota delle encefalopatie epilettiche con insorgenza nel corso del primo anno di vita ad eziologia sconosciuta.

A partire da tale presupposto, è stato ideato nel 2007 il presente lavoro mediante il quale abbiamo valutato il ruolo patogenetico dei geni *ARX* e *CDKL5* nell'ambito di una coorte di soggetti affetti da encefalopatia epilettica con insorgenza nel primo anno di vita ad eziologia sconosciuta, con l'obiettivo di contribuire a chiarire l'entità del coinvolgimento di tali geni in queste patologie e di concorrere alla definizione dei relativi spettri fenotipici, integrando e perfezionando quindi le indicazioni all'analisi molecolare di tali geni.

Di seguito alcune note introduttive generali sulle encefalopatie epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita riportate nella classificazione ILAE 2006 e sui geni *ARX* e *CDKL5* ed i fenotipi attualmente associati.

1.1 Le encefalopatie epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita: le forme sindromiche riportate nella classificazione ILAE 2006

Early Infantile Epileptic Encephalopathy (EIEE) o Sindrome di Ohtahara

La Sindrome di Ohtahara è la più precoce tra quelle età-dipendenti e la più rara tra le encefalopatie epilettiche: si stima che la frequenza relativa tra la Sindrome di Ohtahara e la Sindrome di West sia pari a 1 a 40. E' stata descritta per la prima volta da Ohtahara nel 1978 ed è caratterizzata dalla triade: esordio neonatale, spasmi tonici ed EEG tipo "suppression burst".

Tipicamente l'esordio è nei primi 10 giorni di vita, anche se può manifestarsi anche entro il secondo ed il terzo mese. Il tipo principale di crisi è costituito da spasmi tonici, isolati ed in serie, in veglia e in sonno. La durata di ogni spasmo è di circa dieci secondi con un intervallo tra spasmi in serie di circa cinque - dieci secondi. Oltre agli spasmi tonici possono comparire altri tipi di crisi, quali le crisi focali motorie, coinvolgenti anche un intero emisoma. Le crisi miocloniche sono invece rare mentre il mioclono erratico in genere non è una caratteristica della sindrome.

L'EEG intercritico è peculiare con un tipico pattern di suppression burst, caratterizzato da burst della durata di due - sei secondi costituiti da onde lente degradate ad alto voltaggio frammiste a punte, alternati a fasi di depressione dell'attività elettrica di tre - cinque secondi. All'esordio tale pattern è presente sia in veglia che in sonno. Successivamente la fase di burst suppression è presente solo in sonno e, nella maggior parte dei casi, vi è una transizione verso l'ipsaritmia, talora asimmetrica, o verso un tracciato caratterizzato da

anomalie focali o multifocali. L'EEG critico in corrispondenza degli spasmi tonici è caratterizzato da una diffusa desincronizzazione, talvolta con un'iniziale onda lenta di ampio voltaggio, oppure da un cluster di attività rapida.

Il quadro clinico neurologico è rappresentato da una gravissima e precoce compromissione dello sviluppo psichico e motorio, associato spesso ad anomalie del tono muscolare e spasticità. La risposta alle terapie antiepilettiche è pressoché assente, occasionali risultati positivi sono stati ottenuti con ACTH e/o corticosteroidi. L'evoluzione è sfavorevole con decesso nei primi anni di vita in circa la metà dei casi, e con impairment severo nella restante metà.

Da un punto di vista eziologico la Sindrome di Ohtahara è stata descritta come frequentemente associata ad anomalie strutturali del cervello, malformative e non (Sindrome di Aicardi, emimegalencefalia, poroencefalia, lissencefalia, disgenesie corticali), mentre rari sono i casi riportati nel contesto di malattie metaboliche (iperglicinemia non chetotica e deficit della citocromo C ossidasi) che possono risultare in anomalie della migrazione neuronale o della mielinizzazione per deplezione di energia in un periodo critico per lo sviluppo del cervello. Rare le forme criptogenetiche o probabilmente sintomatiche nell'ambito delle quali recenti segnalazioni individuano mutazioni del gene *ARX* (*Kato et al. 2007*). Non sono riportati casi familiari, fatta eccezione per quelli descritti in associazione a Sindrome di Leigh (*Miyake et al. 1987*), e vi è una lieve maggior incidenza nel sesso maschile.

Early (Neonatal) Myoclonic Encephalopathy (EME)

Analogamente alla EIEE, l'esordio dell'Early Myoclonic Encephalopathy è precoce, in epoca quasi esclusivamente neonatale. Si tratta di una patologia altrettanto rara, forse sottostimata. Le crisi sono costituite da mioclonie

segmentali ed erratiche, presenti fin dalle prime ore di vita e probabilmente anche durante la vita fetale. Interessano generalmente il viso e gli arti, possono essere impercettibili, e persistono durante il sonno, migrando incessantemente da una parte all'altra del corpo, in maniera asincrona. Solo in alcuni casi si riscontrano mioclonie massive. Dopo la comparsa delle mioclonie si presentano spesso crisi parziali e, più tardivamente verso i tre - quattro mesi, spasmi tonici. Le mioclonie tendono a scomparire dopo i primi mesi di vita, lasciando spazio ad un'epilessia intrattabile con crisi focali.

L'EEG è caratterizzato da un pattern a tipo suppression burst che si differenzia da quello dell'EIEE per la minore durata dei burst (uno - cinque secondi) e per la maggiore durata delle fasi di depressione del tracciato (tre - dieci secondi), e che secondo alcuni autori tende a comparire preferenzialmente durante il sonno. Le mioclonie tendono approssimativamente ad essere sincrone con i burst, che seguono con una certa latenza, ma possono essere anche indipendenti. Meno frequentemente rispetto a quanto avviene nell'EIEE, vi è transizione verso un quadro di ipsaritmia atipica o verso un tracciato multifocale.

Il quadro clinico neurologico è molto grave, sovrapponibile a quanto sopra riportato per l'EIEE. Nessuna risposta alla terapia farmacologica, salvo sporadiche segnalazioni con il destrometorfano.

Per quanto riguarda l'eziologia, a differenza dell'EIEE che è una sindrome sporadica, l'EME - che interessa maschi e femmine - è spesso familiare (autosomico recessiva) ed è stata associata ad alcune malattie metaboliche, tipicamente l'iperglicinemia non chetotica ma anche l'acidemia D-glicerica, l'acidemia metilmalonica e propionica, il deficit di carbamil-fosfato sintetasi. Anomalie strutturali del cervello sono rare, ed elevata è la percentuale di casi criptogenetici o probabilmente sintomatici.

Epilessia parziale migrante dell'infanzia

L'Epilessia parziale migrante dell'infanzia è una Sindrome epilettica descritta da Coppola nel 1995 (*Coppola et al. 1995*), caratterizzata dall'esordio nei primi sei mesi di vita di crisi focali migranti polimorfe, prevalentemente motorie ma anche con sole manifestazioni vegetative o automatismi (*Caraballo et al. 2008*), generalmente refrattarie alla terapia antiepilettica, con possibilità di secondaria generalizzazione ed evoluzione in stati di male. Nel corso del primo anno di vita le crisi tendono ad aumentare progressivamente in frequenza fino a diventare pluriquotidiane, spesso in cluster. Mioclonie e spasmi infantili sono eccezionali.

L'EEG intercritico all'esordio mostra frequentemente un diffuso rallentamento dell'attività di fondo, che peggiora nel tempo. Sono presenti anomalie epilettiformi multifocali.

All'EEG critico si evidenzia un'origine indipendente ed asincrona delle crisi, talora contemporanee, che prendono origine da aree differenti di entrambi gli emisferi e che morfologicamente sono caratterizzate da un'attività critica alfa o theta ritmica focale che tende a ridursi in frequenza con il diffondersi della scarica. Recentemente sono stati descritti tre pattern elettroclinici con cui la sindrome può manifestarsi, anche se non sembra esservi nessuna correlazione tra tipo di pattern ed andamento clinico (*Caraballo et al. 2008*). Le crisi sono refrattarie al trattamento e talora tendono ad avere un andamento fluttuante spesso indipendente dal trattamento. Discreti risultati sul controllo delle crisi sono descritti con l'impiego del bromuro, stiripentolo e clonazepam.

Lo sviluppo neurologico è apparentemente normale fino al momento dell'esordio, ma in seguito si assiste a deterioramento psichico e motorio, inizialmente fluttuante - in relazione all'andamento delle crisi - ma poi generalmente progressivo con ritardo mentale, importante ipotonia assiale,

comparsa di segni piramidali ed extrapiramidali e decelerazione della velocità di crescita della circonferenza cranica.

Tale sindrome epilettica interessa entrambi i sessi e non sono descritti casi familiari. La causa di tale sindrome epilettica non è al momento nota. Sono assenti in particolare alterazioni neuroradiologiche significative. Si ipotizza che possa essere dovuta a qualche aberrazione cromosomica o a mutazioni di geni codificanti per canali ionici. In letteratura sono riportate poco decine di casi.

Sindrome di West

E' la più conosciuta e comune tra le encefalopatie epilettiche del primo anno di vita, con un'incidenza di 3-5/10.000 nati vivi. Tipicamente esordisce all'età di 4-6 mesi ed è caratterizzata dalla triade: spasmi, ipsaritmia e regressione dello sviluppo psicomotorio.

Gli spasmi sono contrazioni muscolari brusche, che coinvolgono simmetricamente o asimmetricamente il tronco e gli arti, più spesso in flessione, di durata variabile tra 0.2-2 secondi (quindi più lente della mioclonia e più rapide di una crisi tonica) e di variabile intensità, talora associati a manifestazioni focali (deviazioni degli occhi, capo, fenomeni autonomici), suggerendo la presenza di lesioni focali. Gli spasmi possono essere isolati o più comunemente in cluster di 10-40 spasmi separati da pochi secondi l'uno dall'altro (da 1-30 volte/die).

L'EEG intercritico è caratterizzato dalla comparsa di ipsaritmia, prima in sonnolenza e sonno leggero e poi anche in veglia, costituita - secondo la descrizione originale di Gibbs e Gibbs - dal succedersi casuale di onde lente e punte entrambe di ampio voltaggio, con punte che possono cambiare di momento in momento, sia in localizzazione che in durata e che possono essere ora focali, ora multifocali e generalizzate ma mai ritmiche (*Gibbs e Gibbs 1952*). Si tratta di un'attività di fondo globalmente disorganizzata e

sostituita da onde lente polimorfe, amplissime (voltaggi > 300 uV), a 0.5 -3 Hz, mescolate a punte e punte-onda di grande ampiezza, degradate, distribuite in maniera anarchica sui due emisferi, non reagenti. In sonno vi è un aumento delle punte e delle polipunte, con tendenza alla sincronizzazione delle anomalie e frammentazione dell'ipsaritmia. In sonno non-REM l'ipsaritmia è frammentata con burst di 1-3 secondi alternati a periodi di attività poliritmica di pochi secondi. Il sonno REM è ridotto con diminuzione dell'attività parossistica. L'ipsaritmia è definita atipica o modificata quando l'attività parossistica, ovvero le punte, sono più sincrone (*Hrachovy et al. 1984, Jeavons and Bower, 1964*). L'ipsaritmia può essere inoltre unilaterale o asimmetrica. La predominanza di attività lenta con poche punte caratterizza invece la slow variant (*Gibbs and Gibbs 1952; Gastaut et al. 1964*), mentre è stata riportata anche una fast variant con ritmi rapidi (*Gastaut et al. 1964*) specie in soggetti con agiria e lissencefalia. Talora ci può essere un'attività lenta focale, suggerendo ad esempio una sottostante sclerosi tuberosa o all'opposto generalizzata, come nei casi criptogenetici, o intermedia come nei casi ad eziologia perinatale. Un terzo dei pazienti non presenta ipsaritmia.

L'EEG critico in concomitanza dello spasmo evidenzia, più comunemente, un'attività rapida di basso voltaggio generalizzata, oppure un'onda lenta di ampio voltaggio, oppure un'onda lenta bifasica amplissima, seguita da un'attività elettrica rapida e attenuata in voltaggio. Tra gli spasmi l'ipsaritmia può scomparire o persistere, come più spesso succede nelle forme idiopatiche della Sindrome di West. Nel 10% dei casi non è possibile riconoscere un correlato EEG degli spasmi. Una scarica critica focale può precedere, seguire o accompagnare il cluster, specie, ma non solo, nelle forme dovute a malformazioni corticali o danno cerebrale severo. L'occorrenza di spasmi senza ipsaritmia configura un sottotipo di spasmi infantili in genere refrattari alla terapia.

Da un punto di vista clinico, lo sviluppo neurologico che può essere normale o alterato - a seconda dell'eziologia - prima dell'esordio, subisce un arresto ed una regressione sia dal punto di vista motorio (ipotonia, perdita della capacità di protendersi e raggiungere gli oggetti) sia psico-relazionale (perdita del contatto visivo).

La prognosi è caratterizzata da persistenza delle crisi in circa 2/3 dei casi, dopo la cessazione degli spasmi. In tal caso si assiste ad evoluzione verso una Sindrome di Lennox-Gastaut nel 40-60% dei casi o verso un'epilessia focale in poco più di un terzo dei casi. Da un punto di vista neurologico, nella metà dei casi esistono deficit motori permanenti e, in misura ancora maggiore (70-80% dei casi), ritardo mentale, spesso severo.

Per quanto riguarda l'eziologia, vi è una notevole eterogeneità. Un danno cerebrale preesistente, desumibile sulla base della storia, esame clinico e neuroradiologico, è dimostrato dal 60% al 90% dei casi. I numerosi disordini che possono causare la Sindrome di West possono essere classificati - in base al momento in cui la noxa patogena agisce - in prenatali (malattie neurocutanee, anomalie cromosomiche, malformazioni dello sviluppo corticale [30% dei casi], encefalopatia ipossico-ischemica, infezioni congenite, traumi) perinatali (encefalopatia ipossico-ischemica, infezioni, emorragie intracraniche) e postnatali (metaboliche, infezioni, malattie degenerative, farmaci). Un'altra modalità di classificazione divide le cause in acquisite (encefalopatia ipossico-ischemica [15% dei casi] ed infezioni) e geneticamente determinate. A loro volta queste possono essere distinte in malformative (malattie neurocutanee, neurofibromatosi, lissencefalia dovuta ad alcune mutazioni del gene *LIS1*, *DCX*, Sindrome di Miller-Dieker) e non malformative (alcune anomalie cromosomiche [trisomia 21, delezione 1p36], alcune mutazioni del gene *ARX* e *CDKL5*, alcune malattie metaboliche, quali la Sindrome di Menkes, la fenilchetonuria, deficit di bipterina, le malattie mitocondriali dovute a mutazioni NARP). In circa un terzo dei casi non è

possibile risalire alla causa sottostante (*Primec et al. 2002*). Per indicare tali casi la classificazione ILAE del 1989 utilizza il termine criptogenetico, riferendosi più precisamente a quei casi che sono ritenuti essere sintomatici, ma la cui eziologia rimane sconosciuta, e volendo distinguerli dai rari casi a prognosi favorevole, definiti idiopatici, anch'essi ad eziologia sconosciuta ma dovuti verosimilmente ad una predisposizione genetica. In questi ultimi casi vi è uno sviluppo neurologico normale all'esordio, gli spasmi sono simmetrici con persistenza dell'ipsaritmia tra gli spasmi in serie, e non compare focalità EEG nemmeno dopo infusione di benzodiazepina.

Tale sindrome interessa entrambi i sessi con lieve maggior incidenza tra i maschi. Fatta ovvia eccezione per i casi dovuti a malattie note geneticamente determinate e trasmissibili - come per esempio la sclerosi tuberosa - il rischio di ricorrenza è inferiore all'1%.

Epilessia mioclonica severa dell'infanzia o Sindrome di Dravet

La Sindrome di Dravet, che ha un'incidenza di 1 ogni 20-40.000 nati vivi, esordisce nel primo anno di vita, con un picco a 5 mesi. L'esordio è classicamente costituito da crisi in corso di febbre in bambini in precedenza sani, che vengono poste in diagnosi differenziale con le convulsioni febbrili. Caratteristiche distintive sono però l'esordio precoce, la lunga durata con tendenza a evolvere in stati di male febbrili, la presenza di elementi focali con lato variabile (crisi cloniche, emisomiche, più raramente crisi apparentemente generalizzate) e la ricorrenza, spesso a temperatura corporea non elevata. In una seconda fase sopraggiungono altri tipi di crisi: mioclonie, assenze atipiche, stati di male non convulsivi, detti obtundation status, e crisi parziali complesse, ad andamento pluriquotidiano e tendenza ad essere prolungate. Vi è poi una terza fase in cui si assiste ad un parziale miglioramento delle crisi (mioclonie e assenze possono scomparire, mentre persistono le crisi focali) ed il deterioramento cognitivo e motorio proprio della seconda fase tende a

stabilizzarsi. Le mioclonie, pur essendo ritenute inizialmente indispensabili per la diagnosi di malattia, in realtà sono assenti in circa 1/5 dei casi e talora possono precedere la fase delle crisi febbrili.

L'EEG intercritico è usualmente normale all'esordio. In seguito tra il primo e quinto anno di età, durante la seconda fase, vi può essere un rallentamento dell'attività con comparsa di attività parossistica intercritica in genere scarsa (complessi punta-onda e polipunta onda generalizzati, anomalie focali e multifocali) e riscontro di fotosensibilità. Col tempo si assiste ad un progressivo rallentamento dell'attività di fondo (non costante), diminuzione delle scariche di complessi punta e polipunta onda, persistenza delle anomalie focali e multifocali, e fluttuazione della fotosensibilità.

L'EEG critico durante le mioclonie è caratterizzato da scariche più o meno generalizzate di punte e polipunte onda, mentre variabile è l'attività critica durante le crisi focali.

Di recente sono state individuate mutazioni, in genere *de novo*, sia troncanti che missense, del gene *SCN1A* (codificante per un canale del sodio espresso soprattutto a livello corticale) in associazione alla Sindrome di Dravet. La modalità di trasmissione è autosomica dominante. Tali mutazioni non spiegano del tutto la patogenesi della sindrome, essendo presenti solo in una quota di pazienti che non superano il 70%. Altri geni sono verosimilmente coinvolti. Per tale motivo il riscontro di una mutazione di *SCN1A* è un criterio di supporto, ma non necessario per la diagnosi, che rimane squisitamente clinica.

La prognosi è generalmente sfavorevole, con persistenza di crisi farmaco resistenti, scatenate principalmente da rialzi della temperatura corporea. Vi è deterioramento cognitivo e motorio, con sviluppo di ritardo mentale, stereotipie, atassia e segni piramidali. La mortalità complessiva è del 16%. La terapia più efficace è costituita dall'associazione iniziale di acido valproico e clobazam, cui possono essere associati topiramato e stiripentolo. Tale terapia

può consentire di ridurre la frequenza ed intensità delle crisi, anche se è in discussione se ciò influisca in modo determinante nel contenere il deterioramento cognitivo e la compromissione motoria.

Stato mioclonico in encefalopatie non progressive

Si tratta di una sindrome epilettica riportata nella proposta di classificazione ILAE del 2001 tra le sindromi in corso di definizione. In realtà essa è stata descritta come entità autonoma già nel 1992 da Dalla Bernardina, e ancora prima riportata in diversi lavori (*Dalla Bernardina et al. 1992*). Interessa soggetti con un'encefalopatia non-progressiva ed è caratterizzata dalla ricorrenza di stati mioclonici prolungati e da una prognosi sfavorevole.

L'età d'esordio dell'epilessia può variare dai primi giorni di vita ai 5 anni di età (in media 10 mesi), mentre l'età media di inizio degli stati mioclonici è 14 mesi, anche se la presenza di ritardo mentale spesso severo e i continui movimenti anomali di tali bambini, possono ritardare il loro riconoscimento.

Dal punto di vista clinico gli stati di male mioclonici si caratterizzano per la presenza di mioclonie ed assenze subcontinue. Le mioclonie interessano le palpebre, il viso, e gli arti e sono più frequentemente erratiche ed asincrone diventando più sincrone e continue durante le assenze. Le mioclonie sono spesso impercettibili ed i bambini possono apparire semplicemente apatici o atassici. Lo stato mioclonico può rappresentare la prima manifestazione epilettica ma nella metà dei casi le crisi iniziali sono focali motorie, assenze miocloniche, mioclonie massive e più raramente crisi cloniche generalizzate o unilaterali che ricorrono specie durante malattie febbrili intercorrenti. Crisi toniche non sono mai state descritte.

Dal punto di vista EEG, è spesso difficile riconoscere la natura critica dei pattern elettrici correlati agli stati. Vi è in genere un'attività lenta e scarsamente reagente con più o meno facilmente riconoscibili anomalie parossistiche, consistenti in attività theta-delta sub continua, predominante sulle regioni fronto-centrali, relativamente monomorfa, variante in ampiezza

in modo più o meno asincrono, e brevi sequenze di attività delta ritmica su cui si sovrascrivono punte, realizzando un inusuale complesso punta onda, predominante sulle regioni posteriori, spesso elicitato dalla chiusura degli occhi. In tale contesto le manifestazioni ictali sono caratterizzate da brevi burst di complessi punta-onda lenti, accompagnati da mioclonie erratiche, più o meno ritmiche, che talora divengono ritmiche e sincrone sui due emisomi, in stretta corrispondenza con burst di anomalie diffuse. Il pattern EEG critico è quindi caratterizzato dalla fluttuazione di tali parossismi, che solo raramente sono più facilmente riconoscibili come critici, in quanto si susseguono ritmicamente.

Dal punto di vista neurologico, si tratta di bambini in cui fin all'esordio può essere presente ipotonia assiale, aposturalità, pattern motori anomali, specie distonico-discinetici, ritardo mentale ed assenza di linguaggio. In tale contesto il ricorrere di stati mioclonici determina un'ulteriore compromissione motoria e cognitiva con perdita delle abilità comunicative residue.

Per quanto riguarda l'eziologia, in circa la metà dei casi si individuano anomalie cromosomiche (Sindrome di Angelman, Sindrome 4p-). In circa il 15% dei casi vi è un sottostante danno ipossico-ischemico, mentre in un terzo dei casi l'eziologia rimane sconosciuta, pur potendo trovare alla RMN cerebrale malformazioni cerebrali di diverso tipo ed aspetti dismorfici del volto, che suggeriscono una probabile base genetica. In genere si tratta di casi sporadici, e sono più frequentemente affette le femmine.

1.2 I geni *ARX* e *CDKL5* ed i fenotipi associati

1.2.1 Il gene *ARX* ed i fenotipi associati: overview

Il gene *ARX* (Aristaless-related homeobox, OMIM *300382) è localizzato a livello della regione Xp22.13. Appartiene al gruppo dei geni homeobox, ovvero di quei geni che contengono al loro interno sequenze, denominate

homeodomains, altamente conservate durante l'evoluzione in quanto essenziali per lo sviluppo di una specie. Questi geni codificano per fattori di trascrizione del DNA e gli homeodomains codificano proprio per i domini che consentono il legame di tali fattori al DNA.

Il gene é costituito da 5 esoni, codificanti per una proteina di 562 aminoacidi. La sua struttura comprende in particolare un octapeptide ed un dominio homeobox (aminoacidi 328-387) entrambi altamente conservati, la sequenza di localizzazione nucleare, quattro tratti polialaninici (tre nell'esone 2, uno nell'esone quattro) - costituiti rispettivamente da 16 (aminoacidi 100-115), 12 (aminoacidi 144-155), 7 (aminoacidi 275-281), 9 (aminoacidi 432-440) residui alaninici - ed un dominio C-terminale, noto come Aristaless domain (aminoacidi 530-543) (*Miura et al. 1997, Uyanik et al. 2003*) (**Figura A**)

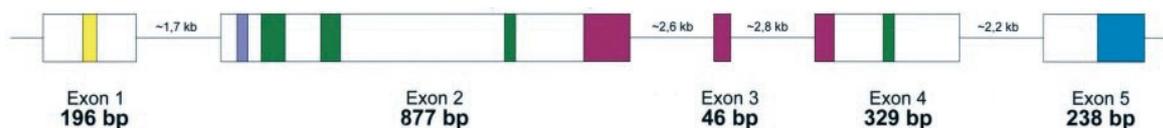


Figura A. Rappresentazione schematica del gene *ARX*. Box giallo: octapeptide; box lilla: sequenza di localizzazione nucleare; box verdi: tratti polialaninici; box rosa: homeodomain; box blu: Aristaless domain (**modificato da Uyanik 2003**).

Il gene *ARX* è espresso in fase embrionale a livello del cervello - nei precursori neuronali nella matrice germinale e nella zona ventricolare, ma anche nella zona subventricolare, nel cortical plate, nel caudato, nel putamen, nella substantia nigra, e nell'ippocampo - a livello del pancreas endocrino e a livello dei testicoli, così come a livello del cervello, del muscolo scheletrico e del fegato nell'adulto (*Miura et al. 1997; Kitamura et al. 2002; Ohira et al. 2002; Colombo et al. 2004*).

Il gene *ARX* svolge un ruolo fondamentale nell'embriogenesi del sistema nervoso centrale, codificando per un fattore di trascrizione essenziale per lo sviluppo del cervello, dei testicoli e del pancreas (*Gecz et al. 2006*). In particolare, la proteina codificata dal gene *ARX* - altamente espressa a livello

della corteccia cerebrale e dell'eminenza ganglionica (da cui origineranno in nuclei della base) in via di sviluppo - modulando la trascrizione di specifici geni, regola i meccanismi di proliferazione neuronale, di migrazione tangenziale/radiale e di differenziazione degli interneuroni GABAergici nelle fasi precoci dello sviluppo embrionale a livello del telencefalo (*Kitamura et al. 2002*). È chiaro quindi che se da una parte un deficit di proliferazione e/o migrazione neuronale dovuto a mutazioni di *ARX* può portare ad un alterato sviluppo della corteccia, quale la lissencefalia (riduzione della superficie corticale ovvero scomparsa della girazione), dall'altra una distribuzione aberrante di interneuroni GABAergici sempre dovuta a mutazioni di *ARX* può causare ritardo mentale e/o epilessia e/o disturbi del movimento, anche in assenza di malformazioni corticali evidenti, semplicemente attraverso uno sbilanciamento tra circuiti eccitatori e inibitori (*Kitamura et al. 2002*).

Il gene *ARX* è stato isolato per la prima volta nel 1997 da Miura e colleghi nel zebrafish e nel topo, ma la prima segnalazione del diretto coinvolgimento dell'ortologo umano di tale gene nella patogenesi di un disordine neurologico, risale al 2002 quando Stromme e colleghi - descrivendo nove famiglie con ritardo mentale e/o epilessia - identificano in *ARX* un possibile gene per la forma familiare X-linked della Sindrome di West (X-linked infantile spasms ovvero ISSX), per il ritardo mentale X-linked, sia sindromico che non sindromico, e per la Sindrome di Partington.

Dopo questa prima importante segnalazione, mutazioni a carico del gene *ARX* sono state identificate come responsabili di numerosi e distinti fenotipi clinici neurologici (*Suri, 2005*), che comunemente vengono distinti in due grandi gruppi: sindromi con malformazioni, se sono presenti appunto malformazioni a carico del sistema nervoso centrale e/o dei genitali, e sindromi o disordini senza malformazioni (*Kato et al. 2006*).

Nell'ambito del primo gruppo, sindromi con malformazioni, rientrano i seguenti fenotipi (riportati con il riferimento all'eventuale acronimo inglese ed all'autore che per primo o meglio li ha definiti o correlati ad *ARX*), distinti a seconda che interessino soggetti maschi o femmine:

maschi:

- Idranencefalia con genitali ambigui, HYD/AG (*Kato et al, 2004*);
- lissencefalia X-linked con genitali ambigui, XLAG (*Kitamura et al. 2002; Uyanik et al. 2003*);
- Sindrome Proud ovvero ritardo mentale, agenesia del corpo calloso e genitali ambigui, ACC-AG (descritta anche in femmine) (*Proud et al. 1992; Hartmann et al. 2004; Kato et al. 2004*);
- Encefalocele transfenoidale e ipopituitarismo (*Van Esch 2004*);

femmine:

- agenesia del corpo calloso con ritardo mentale ed epilessia;
- agenesia del corpo calloso con normale intelligenza;

Nell'ambito del secondo gruppo, sindromi o disordini senza malformazioni, rientrano i seguenti fenotipi (riportati con il riferimento all'autore che per primo o meglio li ha definiti o correlati ad *ARX*), che interessano in genere solo soggetti di sesso maschile:

- la Sindrome degli Spasmi Infantili X-linked, ISSX (*Stromme et al. 2002a, 2002b*);
- epilessia mioclonica X-linked con spasticità e disabilità intellettiva (*Scheffer et al. 2002*);
- la Sindrome di Partington ovvero ritardo mentale X-linked, epilessia e distonia distale lieve (*Stromme et al. 2002a, 2002b*);
- ritardo mentale X-linked con o senza epilessia (possibile anche nelle femmine) (*Bienvenu et al. 2002*);

Sempre di questo secondo gruppo fa parte il fenotipo descritto da Guerrini nel 2007 (*Guerrini et al. 2007*) denominato epileptic-dyskinetic encephalopathy e caratterizzato da spasmi infantili, grave compromissione cognitiva e tetraparesi discinetica, nonostante la presenza di minute alterazioni di segnale alla RMN cerebrale suggestive di una perdita multifocale di tessuto, in assenza però di chiari aspetti malformativi.

Recentemente, inoltre, lo spettro fenotipico dei disordini legati ad *ARX* si è ulteriormente allargato per la segnalazione di mutazioni di tale gene in soggetti affetti da Sindrome di Ohtahara (*Kato et al. 2007*).

Solo in una minoranza dei casi le mutazioni del gene *ARX* sono *de novo* (*Bienvenu et al. 2002; Gronskov et al. 2004*), anche se la presenza di mosaicismo germinale potrebbe rendere conto di alcuni di questi casi (*Poirer et al. 2005*). Nella maggior parte dei casi, infatti, si tratta invece sicuramente di mutazioni trasmesse, con una modalità di trasmissione X-linked recessiva: i maschi sono affetti, mentre in genere le femmine sono portatrici sane. Sono però descritti in letteratura soggetti di sesso femminile sintomatici, presentando in genere agenesia del corpo calloso con intelligenza normale oppure agenesia del corpo calloso associata a ritardo mentale e/o epilessia. Le portatrici sintomatiche in genere sono madri di soggetti affetti da forme malformative, dovute alle mutazioni più severe (vedi *infra*).

Sono state individuate ad oggi oltre 35 differenti mutazioni nel gene *ARX* nei diversi fenotipi clinici. Le mutazioni si distribuiscono con netta prevalenza nei primi 4 esoni; in particolare la maggior parte si colloca nell'esone 2, il più lungo ed importante tra i 5 esoni, rappresentando circa il 50% dell'intera regione codificante e comprendendo la sequenza di localizzazione nucleare, 3 dei 4 domini polialaninici e parte dell'homeodomain. La mutazione di *ARX* di gran lunga più comune è rappresentata da una duplicazione di 24 paia di basi nell'esone 2 che risulta in un'espansione del secondo tratto polialaninico

da 12 a 20 residui. Solo in 2 casi, a nostra conoscenza, sono riportate mutazioni nell'esone 5: un'ampia delezione in un soggetto con spasmi infantili e ritardo mentale severo (*Stromme et al. 2002*) e una missense in un soggetto con lissencefalia e genitali ambigui, associata ad ipoplasia del cervelletto (*Kato et al. 2004*).

Tutti i tipi di mutazioni sono stati descritti, missense, nonsense, mutazioni di splicing, e soprattutto duplicazioni e inserzioni che determinano espansioni dei tratti polialaninici.

Sebbene mutazioni del gene *ARX* siano associate a molti fenotipi diversi, sembra esserci una discreta correlazione genotipo-fenotipo (*Kato et al. 2004*; *Suri et al. 2005*; *Guerrini et al. 2007*), nella misura in cui un determinato fenotipo è riconducibile ad un set di possibili genotipi, come sintetizzato in tabella (**Figura B**).

D'altra parte però mutazioni nel gene *ARX* sono associate ad una significativa variabilità di espressione, sia inter che intra familiare. Questo è ad esempio particolarmente vero per la mutazione più comune c.428_45dup (24 bp) che può risultare in diversi fenotipi - la Sindrome di Partington, la Sindrome di West ed il ritardo mentale non sindromico X-linked - potendo essere addirittura aneddoticamente associati in una stessa famiglia a XLMR ed anomalie di sviluppo cerebrale (*Van Esch et al. 2004*).

Una nota a parte meritano le mutazioni che determinano espansioni a carico del primo tratto polialaninico. Espansioni di piccole dimensioni di tale tratto (che portano da 16 a 17, 18 o 19 il numero di alanine in sequenza), possono risultare in ritardo mentale X-linked con o senza epilessia. Espansioni maggiori (che portano da 16 a 23 il numero di alanine in sequenza) sono state invece descritte associate alla Sindrome di West X-linked e alla più severa epileptic-dyskinetic encephalopathy descritta da Guerrini (*Guerrini et al. 2007*) e prima ancora da Wohlrab (*Wohlrab et al. 2005*). Ulteriori espansioni (che portano da 16 a 27 il numero di alanine in sequenza) sono state invece

correlate alla Sindrome di Ohtahara (*Kato et al. 2007*), suggerendo l'esistenza di correlazione tra estensione del tratto polialaninico e gravità dell'encefalopatia.

Phenotypes and genotypes associated with ARX mutations		
	Phenotype (gender)	ARX genotypes
Syndromes with malformations	XLAG with HYD (M)	Large intragenic deletions, frameshifts or null mutations (exons 1 – 4), nonconservative missense mutations in homeobox (* + conservative missense in homeobox in ACC – AG) (** + non conservative missense near to Aristaless domain in XLAG)
	XLAG (M) (**)	
	Proud syndrome (ACC – AG) (M) (*)	
	ACC with MR, seizures (F)	
	ACC with normal intelligence (F)	
Syndromes without malformations	Infantile epileptic-dyskinetic encephalopathy (M)	Poly A expansion (1 st PolyA tract [GCG] 7)
	Infantile spasm (M)	polyA expansion (1 st [GCG] 7 and 2 nd PolyA tracts), deletions of exon
	XMESID (M)	Rarely, conservative missense mutations in home box
	Partington syndrome (XLMR, seizures, mild distal dystonia) (M)	Poly A expansion (2 nd PolyA tract)
	XLMR with or without seizures (M)	PolyA expansion (1 st [GCG] 1, 2, 3, and 2 nd PolyA tracts) missense mutations outside homeobox
	Normal (F)	PolyA expansion, missense mutations

Figura B. ACC: agenesi of the corpus callosum; AG: abnormal genitalia; HYD: hydrancephalia; XLMR: X-linked mental retardation; XLAG:L X-linked lissencephaly with abnormal genitalia; XMESID _ X-linked myoclonic epilepsy with spasticity and intellectual disability (**modificata ed aggiornata da Guerrini 2007**).

1.2.2 Il gene *CDKL5* ed i fenotipi associati: overview

Il gene *CDKL5* (Cyclin-Dependent Kinase-like 5, OMIM *300203), detto anche *STK9* (serine-threonine kinase 9), mappa a livello della regione Xp22. Tale gene codifica per una proteina di 1030 aminoacidi che contiene una porzione N-terminale (aminoacidi 13-297), comprendente un ATP-binding region (aminoacidi 14-47) ed un dominio catalitico altamente conservato serina-treonina chinasi (aminoacidi 127-144), ed una lunga regione C-

terminale, coinvolta nella localizzazione nucleare della proteina e nella down-regulation della sua attività catalitica (*Rusconi et al. 2008*).

Ancora limitate sono le conoscenze circa la reale funzione cellulare del CDKL5. Si tratta di una proteina ubiquitaria, prevalentemente localizzata nel nucleo, molto espressa a livello cerebrale. Il suo profilo di espressione spaziotemporale è parzialmente sovrapponibile a quello di MECP2 (Methyl-CpG-binding protein 2, OMIM#300005) responsabile della forma classica della Sindrome di Rett, e ciò fa ipotizzare una stretta interazione di CDKL5 e MECP2 specie nei processi di maturazione neuronale e di sinaptogenesi, suggerendo l'esistenza di una comune via molecolare (*Mari et al. 2005*). In particolare il CDKL5 fosforilando MECP2, noto repressore della trascrizione, potrebbe regolarne la capacità di legarsi al DNA e quindi modulare indirettamente la trascrizione di geni target, tra quali vi è pure *UBE3A* coinvolto nella Sindrome di Angelman.

Il gene *CDKL5* è stato identificato e caratterizzato per la prima volta nel 1998 da un gruppo di ricercatori del San Raffaele di Milano mediante un transcriptional mapping della regione Xp22 (*Montini et al. 1998*), dove erano stati mappati in precedenza diversi disordini genetici tra cui la Sindrome di Nance-Horan, la Sindrome oro-facio-digitale e un nuovo locus per la sordità neurosensoriale non sindromica (DFN6).

Cinque anni dopo, Kalscheuer - descrivendo due bambine affette da spasmi infantili, ipsaritmia, grave arresto dello sviluppo, ritardo mentale severo e portatrici di due diverse traslocazioni bilanciate *de novo* entrambe troncanti il gene *CDKL5* - riporta la prima segnalazione del diretto coinvolgimento del *CDKL5* nella patogenesi di un disordine neurologico, candidandolo a secondo gene della forma familiare X-linked della Sindrome di West (X-linked infantile spasms ovvero ISSX) dopo il gene *ARX* (*Kalscheuer et al. 2003*). L'anno successivo il gruppo australiano di Christodoulou - riportando due

diverse mutazioni del *CDKL5* una familiare e l'altra sporadica - descrive tre soggetti affetti da epilessia severa ad esordio precoce con spasmi infantili, ritardo mentale di grado variabile e successiva manifestazione cliniche Rett-like, proponendo il *CDKL5* come gene-malattia dell'early seizures variant della Sindrome di Rett (*Weaving et al. 2004*).

Da allora sono stati riportati oltre 50 lavori, di cui più di 30 monografici, e descritti oltre 60 pazienti e oltre 50 nuove mutazioni. In questi sei anni inoltre diversi fenotipi clinici sono stati descritti in soggetti portatori di mutazioni-malattia del *CDKL5*, ma soprattutto diversi sono stati i termini usati per definirli: "ISSX and mental retardation" (*Kalscheuer et al. 2003*), "Atypical RTT", "Early-onset seizures variant of RTT", "Autistic disorder with intellectual disability" "Profound intellectual disability and seizures" (*Weaving et al. 2004*), "Neonatal onset encephalopathy", "Severe neurodevelopmental retardation" (*Tao et al. 2004*), "Rett syndrome variant with infantile spasms" (*Scala et al. 2005*), "Severe infantile encephalopathy" (*Rosas-Vergas et al. 2007*), "Severe encephalopathy and early-onset intractable epilepsy" (*Elia et al. 2008*). Allo stesso modo, anche da un punto di vista più strettamente epilettologico, diverse sono state le sindromi epilettiche chiamate in causa ed i termini definiti di volta in volta per descrivere l'epilessia presente in questi pazienti - "Infantile spasms / West Syndrome" (*Kalscheuer et al. 2003; Scala et al. 2005*) "Lennox-Gastaut Syndrome" (*Weaving et al. 2004*), "Infantile epileptic encephalopathy" (*Evans et al. 2005*) - con più recentemente il tentativo da parte di alcuni gruppi di caratterizzare e definire specifici profili elettroclinici (*Buoni et al. 2006; Bahi-Buisson et al. 2008a*) ed il suggerimento di evitare un eccesso di nomenclatura facendo riferimento ad un unico spettro fenotipico definito *CDKL5*-related disorders o *CDKL5*-associated encephalopathy (*Bahi-Buisson et al. 2008b*).

In tale prospettiva, è possibile riconoscere nei diversi casi descritti in letteratura aspetti clinici comuni, recentemente ben sintetizzati da Bahi-Buisson (*Bahi-Buisson et al 2008b*) in un lavoro in cui riporta il fenotipo di 20 soggetti di sesso femminile confrontandolo con i casi precedentemente pubblicati. Si tratta di bambine con una storia prenatale muta, che fin dalla nascita presentano in genere un'importante compromissione neurologica dominata dall'ipotonia e dallo scarso contatto visivo. Vi è in genere un severo impairment dello sviluppo psichico e motorio, caratterizzato da ritardo mentale profondo con tratti autistici, assenza di linguaggio, aprassia manuale con raggiungimento della posizione seduta e della deambulazione autonoma solo in un terzo delle pazienti. Più raramente, dopo minime acquisizioni, può seguire una fase di regressione con decelerazione della velocità di crescita della circonferenza cranica. Solo tardivamente - a partire dal secondo terzo anno di vita - e non in tutte le pazienti, compaiono aspetti clinici che ricordano la Sindrome di Rett: stereotipie manuali, disturbi autonomici, bruxismo, disturbi del sonno.

Se gli aspetti clinici sono ben descritti dai diversi autori, relativamente pochi sono invece i lavori dedicati in modo specifico alla semeiologia delle crisi ed agli aspetti elettroencefalografici (*Archer et al. 2006; Buoni et al. 2006; Grosso et al. 2006, Pintaudi et al. 2008*), e tra questi il più sistematico è sicuramente un altro lavoro di Bahi-Buisson (*Bahi-Buisson et al. 2008a*), che, con tutti i limiti delle stadiazioni, riconosce un andamento a tre steep nella storia epilettologica di questi pazienti: una fase precoce (1-10 settimane di vita) con frequenti crisi convulsive, riferite toniche generalizzate ed un EEG sostanzialmente normale, una seconda fase di encefalopatia epilettica con spasmi e crisi toniche ed un EEG ipsaritmico (dai 6 mesi ai 3 anni), ed una fase tardiva dominata dalla persistenza di crisi toniche e dalla comparsa di crisi miocloniche con un EEG caratterizzato da burst di anomalie epilettiformi amplissime ad andamento pseudo periodico.

Come succede nel contesto di ogni spettro fenotipico, accanto alla maggior parte dei soggetti riportati in letteratura che presentano un'epilessia severa ed una grave compromissione neurologica, vi sono soggetti mutati con un quadro neurologico, in particolare motorio, relativamente risparmiato (*Weaving et al. 2004*), e soggetti con un'epilessia meno grave (*Psoni et al. 2009*). Comunque, se è vero che ci sono soggetti mutati che non fanno mai crisi (*Weaving et al. 2004*) e che circa il 10% dei soggetti riportati in letteratura cessa di averne dopo una fase iniziale, oltre due terzi dei pazienti descritti evolvono invece in una fase di epilessia florida fatta di crisi pluriquotidiane di difficile controllo. In una metà di questi casi, considerando il follow-up disponibile, vi è la possibilità nel tempo di un discreto controllo delle crisi mentre l'altra metà presenta un'epilessia refrattaria.

La quasi totalità dei soggetti riportati è rappresentata da casi sporadici, ovvero da mutazioni *de novo*, che interessano prevalentemente soggetti di sesso femminile, come succede per le malattie a trasmissione X-linked dominante. Rare sono, infatti, le mutazioni sicuramente patogenetiche descritte coinvolgere esclusivamente il gene *CDKL5* (*Weaving et al. 2004; Elia et al. 2008*).

Le mutazioni riportate possono interessare virtualmente tutti i 23 esoni del gene, quindi sia il dominio catalitico che la regione C-terminale. Tutti i tipi di mutazioni sono stati descritti - missense, nonsense, mutazioni di splicing, delezioni, inserzioni, traslocazioni - oltre ad ampi riarrangiamenti genetici coinvolgenti regioni più estese del gene *CDKL5*.

Per quanto riguarda la correlazione genotipo-fenotipo, diversi fattori possono virtualmente contribuire alla variabilità fenotipica descritta, tra i quali il sesso, il pattern di X-inattivazione, il tipo e la sede della mutazione. A questo proposito, secondo Bahi-Buisson e colleghi, mutazioni troncanti o missense all'interno del dominio catalitico, rispetto a mutazioni troncanti distali,

sarebbero responsabili di fenotipi caratterizzati da maggiore severità clinica, maggiore incidenza e maggiore precocità di esordio dell'encefalopatia epilettica (*Bahi-Buisson et al. 2008a*). Ciò sarebbe dovuto al fatto che la eventuale perdita di attività catalitica (loss of function), prodotta da mutazioni troncanti o missense all'interno del dominio medesimo, sarebbe più deleteria del guadagno di funzione (gain of function) eventualmente causato da mutazioni troncanti distali, che alterano i meccanismi di down-regulation dell'attività catalitica (*Rusconi et al. 2008*). Secondo Russo e colleghi, invece, la maggior severità clinica eventualmente correlata a mutazioni missense all'interno del dominio catalitico, sarebbe da imputare ad un meccanismo di gain of toxic function, ovvero guadagno da parte della proteina mutata di una funzione aberrante, tossica per la cellula (*Russo et al. 2009*). Comunque, al di là di tali ipotesi, l'impressione condivisa è che il fenotipo elettroclinico dipenda dalle specifiche conseguenze molecolari e cellulari di ogni singola specifica mutazione (*Bahi-Buisson et al. 2008b*) e quindi sia ancora prematura ogni considerazione o generalizzazione riguardante la correlazione genotipo.

2. OBIETTIVO

L'obiettivo del presente lavoro è rappresentato dalla valutazione del ruolo patogenetico dei geni *ARX* e *CDKL5* nell'ambito delle encefalopatie epilettiche (EE) ad eziologia sconosciuta con insorgenza nel primo anno di vita, contribuendo inoltre a chiarire l'entità del coinvolgimento di tali geni in queste patologie.

Il lavoro si propone altresì di contribuire alla caratterizzazione fenotipica dei soggetti con mutazioni-malattia dei geni *ARX* e *CDKL5*, al fine di concorrere alla definizione dei relativi spettri fenotipici, integrare e perfezionare le indicazioni all'analisi molecolare di tali geni, e porre le basi per una successiva correlazione genotipo-fenotipo.

3. PAZIENTI E METODI

3.1 Reclutamento dei pazienti

Dal 2007 al 2009 abbiamo reclutato presso il Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova e presso altri centri italiani - l'U.O.C. di Neuropsichiatria Infantile degli Spedali Civili di Brescia, il Servizio Autonomo di Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Verona, l'U.O.C. di Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Messina, l'U.O. di Neuropsichiatria Infantile del Presidio Ospedaliero di Alta Specializzazione G. Salesi di Ancona - soggetti di entrambi i sessi, con un quadro di encefalopatia epilettica ad eziologia sconosciuta ed insorgenza delle crisi nel corso del primo anno di vita, per i quali sulla base dei dati anamnestici, obiettivi, neurofisiologici, neuroradiologici ed eventualmente di laboratorio potesse essere esclusa un'epilessia idiopatica o un'epilessia sintomatica di malattie neurologiche note, acquisite o geneticamente determinate, o di malformazioni cerebrali.

3.2 Analisi molecolare

Previa acquisizione del consenso informato da parte dei genitori, è stata condotta nei pazienti reclutati l'analisi mutazionale dei geni *ARX* e *CDKL5* su DNA estratto da sangue periferico mediante analisi in DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography) e sequenziamento diretto delle regioni esoniche ed introniche limitrofe come riportato in letteratura (*Kato et al. 2004; Scala et al. 2005*).

L'analisi molecolare è stata condotta dal Laboratorio di Diagnosi e Studio delle Malattie Rare del Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova.

3.3 Caratterizzazione fenotipica

Di ogni paziente reclutato è stata compilata una scheda dettagliata di raccolta dati creata appositamente per questo lavoro (vedi appendice: SCHEDA RACCOLTA DATI: ENCEFALOPATIE EPILETTICHE).

Partendo da tale scheda, è stato valutato e descritto sistematicamente il fenotipo clinico, somatico, neurofisiologico e neuroradiologico di tutti i soggetti con mutazioni-malattia dei geni *CDKL5* e *ARX*, con particolare attenzione agli aspetti neurologici, epilettologici ed elettroencefalografici. La valutazione fenotipica di tali soggetti è stata inoltre integrata, quando possibile, dalla consultazione diretta da parte del dottorando della documentazione clinica e video-elettroencefalografica dei pazienti mutati, coadiuvato dalla dr.ssa Clementina Boniver, responsabile del Servizio di Neurofisiologica e Neuropsicologia Pediatrica del Dipartimento di Pediatria, dell'Università di Padova.

4. RISULTATI

Sono stati identificati 80 soggetti (40 femmine e 40 maschi) includibili nello studio. I soggetti sono tutti risultati non consanguinei, tranne due maschi, figli di sorelle gemelle monozigoti. In base alla disponibilità di DNA, sono stati al momento analizzati per *CDKL5* 75/80 soggetti (38 F, 37 M) e per *ARX* 73/80 (33 F, 40 M).

4.1 RISULTATI DELLO SCREENING MUTAZIONALE DEL GENE *CDKL5* NEL CAMPIONE RECLUTATO

Nel campione analizzato sono stati identificati 6 soggetti affetti da mutazioni-malattia - risultate *de novo* - del gene *CDKL5*, 5 femmine ed 1 maschio.

Di seguito le mutazioni identificate del gene *CDKL5*, riportate secondo la corrente nomenclatura: c.609G>C; p.Glu203Asp / c.213A>G; p.Asn71Asp / c.509_510delAG; p.Glu170fsX205 / c.513C>G; p.Tyr171Stop / c.583T>C; p.Trp195Arg / c.1675C>T; p.Arg559Stop.

4.1.1 Breve descrizione clinica dei singoli soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene *CDKL5*

Qui di seguito sono riportati in sintesi la storia ed i profili elettroclinici dei pazienti identificati con mutazioni malattia del gene *CDKL5*, di età attuale compresa tra i 15 mesi ed gli 11 anni. Si vedano a questo proposito anche la **tabella 1** e la **tabella 2** al paragrafo 4.1.2. La definizione dei fenotipi dei soggetti mutati è inoltre integrata in appendice dalla presentazione a carattere esemplificativo di alcuni tracciati elettroencefalografici critici ed intercritici, con relative didascalie, relativi ai singoli pazienti nelle diverse fasi di vita.

L'età media al momento della diagnosi molecolare era pari a 4,5 anni (range: 11 mesi - 10 anni e 3 mesi).

Paziente 1

La paziente 1 (età attuale 5 anni), secondogenita di genitori non consanguinei, nasce a 37 SG, dopo gravidanza normodecorsa. Il peso alla nascita è pari a 3,2 kg (75%ile), la lunghezza 52,5 cm (90%ile) e la circonferenza cranica 34,3 cm (75%ile). La perinatalità è caratterizzata da un modesto distress respiratorio complicato da pneumotorace spontaneo e da ittero fototrattato.

Fin dai primi mesi di vita la bambina presenta un globale ritardo nell'acquisizione delle tappe dello sviluppo psichico e motorio.

A circa un mese e mezzo di vita i genitori segnalano la comparsa in sonno di scatti isolati in estensione a carico degli arti inferiori ed in seguito anche degli arti superiori, descritti dai genitori come sussulti, in seguito interpretati come verosimili manifestazioni critiche a tipo spasmo e/o mioclonia.

Solo a circa 2,5 mesi di età la bimba giunge ad osservazione per la comparsa di crisi focali, spesso seguite da manifestazioni motorie improvvise a tipo spasmo e/o mioclonia con incerto correlato elettrico (non mostrato), che possono presentarsi anche isolati e in brevi serie (**Figura 1.1**) indipendenti dalle crisi focali. L'esame neurologico è caratterizzato da scarsa relazione ed ipotonia assiale. L'EEG intercritico a tale età è caratterizzato da una buona organizzazione dell'attività di fondo in veglia e sonno (non mostrato). In veglia si segnala la presenza di attività theta delta inabituale sulle regioni centrali di destra ed al vertice (non mostrato) e rare punte. L'avvio della terapia con vigabatrim consente un buon controllo delle crisi focali che riprendono - talora frammiste a spasmi - all'età di 11 mesi, con scarsa risposta al passaggio all'acido valproico ed alla successiva aggiunta di nitrazepam. Persistono senza periodo libero le manifestazioni isolate a tipo spasmo e/o mioclonia, specie in sonno (**Figura 1.2**). L'EEG di controllo a 14 mesi mostra una minor organizzazione dell'attività elettrica, con presenza di onde lente e rare punte di basso voltaggio in veglia (non mostrato) e sonnolenza (**Figura**

1.3) e di attività delta di ampio voltaggio in sonno seconda fase (**Figura 1.4**). A 15 mesi circa si assiste ad iniziale regressione dello sviluppo.

All'età di 2 anni si assiste alla comparsa di crisi toniche (**Figura 1.5**) ed ad un ulteriore significativo incremento dei vari tipi di crisi, spesso associate, scarsamente e transitoriamente responsive a nuovi tentativi terapeutici con topiramato e levetiracetam. A tale età l'EEG è caratterizzato in veglia (**Figura 1.6**) e sonnolenza (non mostrato) da un'attività theta ampia e diffusa, più continua e di maggior voltaggio a livello delle regioni anteriori, frammista a rare punte multifocali. Si configura nella seconda metà del secondo anno di vita un quadro di iniziale encefalopatia epilettica.

In pochi mesi si assiste ad un netto incremento dell'attività parossistica e all'età di 2 anni e 4 mesi l'EEG dimostra in veglia un'attività theta ampia e diffusa, con anomalie a tipo punta, onda aguzza e complessi punta-onda, multifocali, di ampio ed amplissimo voltaggio (**Figura 1.7**), che in sonnolenza aumentano nettamente in frequenza ed ampiezza con tendenza ad essere più sincrone (**Figura 1.8**). Tale pattern EEG tende a persistere negli anni successivi, con fluttuanti periodi di riduzione dell'attività parossistica - solo raramente in relazione a modifiche terapeutiche. Persiste invece un'epilessia farmaco resistente caratterizzata nel tempo dalla persistenza di mioclonie massive pluriquotidiane e crisi focali, talora subentranti, con minima traduzione clinica - riduzione della motilità afinalistica ed interruzione delle stereotipie - configurando un quadro elettroclinico di stato di male.

Attualmente all'età di 5 anni, la bambina presenta una severa compromissione psichica e motoria con relazione scarsa, contatto visivo povero e fluttuante, ipotonia assiale, motricità spontanea afinalistica e stereotipie manuali e movimenti di protrusione della lingua. La velocità di crescita della circonferenza cranica mostra una lieve deflessione dalla nascita, passata dal 75°ile al 25-50°ile. Persistono mioclonie pluriquotidiane erratiche e

massive, crisi focali a diversa semeiologia e variabile intensità e durata - alcune con minima traduzione clinica (**Figura 1.9**) ed altre francamente motorie - spesso con componente tonica e talora secondaria generalizzazione. La terapia in atto con felbamato - in associazione con vigabatrim e nitrazepam - sembra aver ridotto l'occorrenza di stati di male. L'attività EEG, disorganizzata e marcatamente rallentata per l'età, è dominata da burst bilaterali di punte, polipunte ed onde aguzze, predominanti sulle regioni anteriori in veglia (**figura 1.10**), marcatamente sincronizzati e frammentati in sonno (**Figura 1.11**) fino ad assumere andamento cosiddetto pseudo periodico particolarmente evidente in sonno profondo (**Figura 1.12**). Numerose indagini sono state eseguite nel corso degli anni (esami metabolici su sangue, urina, e liquor, cariotipo ad alta risoluzione, potenziali evocati) tutti risultati nella norma. La RMN cerebrale eseguita a 3 mesi è risultata negativa e ripetuta a 18 mesi mostrava lieve ritardo della mielinizzazione.

L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica missense: c.609G>C; p.Glu203Asp.

Paziente 2

La paziente 2 (età attuale 5 anni), secondogenita di genitori non consanguinei senza familiarità per malattie neurologiche, nasce a 38 SG da taglio cesareo per presentazione podalica. Durante la gravidanza, per altro normodecorsa, la madre, affetta da tiroidite di Hashimoto, ha regolarmente assunto terapia sostitutiva.

I parametri antropometrici alla nascita sono sostanzialmente nella norma: peso 3,58 Kg (50-75°%ile), lunghezza 50.5 cm (25-50°%ile), CC 35.8 cm (98°%ile). Si segnala macrocrania familiare, presente in particolare nel padre e nel fratello maggiore. La perinatalità è nella norma, con allattamento materno e buona crescita staturale-ponderale.

Sin dai primi mesi di vita viene segnalato un modesto ritardo nell'acquisizione delle tappe dello sviluppo psicomotorio. All'età di 4 mesi compaiono crisi epilettiche focali, caratterizzate inizialmente da ipertono e clonie all'arto inferiore destro, senza apparente rottura del contatto. In seguito si assiste a modifica della semeiologia delle crisi accompagnate da perdita di contatto, movimenti di degustazione e comparsa di spasmi e/o mioclonie in serie ai 4 arti, che presto occorrono anche indipendentemente dalle crisi focali.

Alla prima valutazione clinica, condotta per tale motivo, si evidenziano 9 chiazze caffè latte sulla cute, peraltro presenti anche nel fratello sano. L'esame neurologico evidenzia scarso controllo del capo e relazione incostante con minimo accenno a sorriso sociale. L'EEG intercritico mostra una discreta strutturazione dell'attività elettrica e la presenza di anomalie epilettiformi focali in veglia e sonno, con frammiste onde lente (**Figura 2.1**). Il monitoraggio video-EEG-poligrafico a tale età consente di registrare una crisi elettroclinica focale originata dalle regioni frontali di sinistra preceduta e seguita da manifestazioni motorie a tipo spasmo con incostante traduzione elettrica, ovvero un'onda isolata di ampissimo voltaggio bilaterale e diffusa (**Figura 2.2**).

Viene intrapresa terapia con carbamazepina senza significativo beneficio. Persistono le crisi focali, ora con componente tonica, e gli spasmi, sia in flessione che in estensione, e compaiono mioclonie in serie. La sostituzione della carbamazepina con l'acido valproico consente un parziale controllo delle crisi per alcuni mesi.

Gli EEG di controllo mostrano un progressivo rallentamento dell'AF con la comparsa di un'attività theta di ampio voltaggio con incremento delle anomalie, specie in sonno (**Figura 2.3**), che iniziano a diventare bisincrone (**Figura 2.4**).

A partire dai 15 mesi di età la bambina presenta un progressivo deterioramento dell'attività elettrica di fondo, e le crisi ritornano ad essere frequenti, verificandosi spesso a grappoli. Da un punto di vista neurologico la bambina in questa fase presenta ancora una discreta relazione con minime acquisizioni psicomotorie, pur in presenza di una significativa ipotonia assiale: sorride, mostra incostante interesse per gli oggetti, che afferra con presa grossolana e porta alla bocca, regge il capo e rotola, ma non sta seduta autonomamente né sostiene il proprio peso in posizione eretta.

Negli anni successivi la paziente, di cui disponiamo di limitate informazioni, sviluppa un'epilessia farmaco-resistente, con un quadro di encefalopatia epilettica a partire dai 20 mesi e concomitante regressione dello sviluppo psicomotorio.

All'età di 4 anni, ultimo follow up riferito, la bambina presenta una gravissima compromissione psichica e motoria, caratterizzata da ipotonia marcata, fluttuante controllo del capo e relazione praticamente assente. Presenta distonie grossolane (tipo lancio dell'arto) e stereotipie manuali atipiche (continuo strofinamento degli occhi e della fronte). Le crisi attuali sono costituite da mioclonie massive pluriquotidiane e da crisi toniche plurimensili. Negli anni le numerose indagini metaboliche eseguite, i potenziali evocati multimodali ed il cariotipo sono risultati negativi. La RMN cerebrale eseguita all'età di circa 6 mesi evidenzia modesta atrofia frontale.

L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica missense: c.213A>G; p.Asn71Asp.

Paziente 3

La paziente 3 (età attuale 7 anni), unicogenita di genitori non consanguinei, nasce a termine da parto cesareo per presentazione podalica, dopo gravidanza normodecorsa durante la quale la madre ha regolarmente assunto terapia ormonale sostitutiva per ipotiroidismo. La familiarità risulta negativa per

malattie neurologiche e psichiatriche, ed epilessia. Peso neonatale pari 3,15 kg (50^oile), altri parametri auxologici non disponibili.

La perinatalità è regolare ed anche la successiva crescita staturo-ponderale. Dall'età di 3 mesi viene descritta la comparsa di episodi critici pluriquotidiani, specie dopo i pasti, caratterizzati da iperestensione del capo, staring, clonie palpebrali, cianosi periferica intensa, inizialmente interpretati come manifestazioni secondarie a reflusso gastroesofageo in relazione al concomitante riscontro di ernia jatale e successivamente reinterprete come crisi tonico-cloniche apparentemente generalizzate. L'EEG intercritico in veglia ed in sonno a tale età risulta nella norma (non mostrato). Viene intrapresa terapia antiepilettica con fenobarbital rapidamente sospesa perché inefficace. Ciononostante lo sviluppo psico-motorio, pur rallentato nelle sue tappe, procede fino al compimento del primo anno di vita.

A 13 mesi, dopo un periodo libero da crisi, vi è la comparsa di episodi critici caratterizzati da sguardo fisso, incostante revulsione dei bulbi oculari, perdita di contatto seguiti da cluster di spasmi in flessione del capo e degli arti superiori ed altri episodi caratterizzati da fissità dello sguardo più mioclonie buccali. In concomitanza con la comparsa di tali episodi, la bambina - che aveva raggiunto il controllo del capo a 3 mesi, la posizione seduta a 8 mesi e sapeva tenere il biberon - presenta marcata irritabilità e concomitante regressione psichica e motoria con peggioramento della relazione: fissazione ed inseguimento fugaci, marcata ipotonia assiale, aposturalità, stereotipie manuali.

L'EEG intercritico a 15 mesi mostra un pattern caratterizzato da complessi punta-onda e polipunta-onda lenta bilaterali (non mostrato). Viene quindi intrapresa terapia con ACTH e successivamente con acido valproico e clobazam.

Negli anni successivi la paziente sviluppa un'epilessia farmaco-resistente, caratterizzata da crisi apparentemente generalizzate tonico cloniche,

commistione di spasmi tonici e mioclonie oculari e agli arti, con frequenza pluriquotidiana, e crisi toniche in serie frammiste a sequenze di anomalie focali ritmiche con incerto correlato clinico (**Figura 3.1**) L'EEG intercritico negli ultimi anni è caratterizzato da attività theta delta non reagente ampia, frammista a sub continue anomalie bilaterali (**Figura 3.2**) con tendenza a fenomeni di bi sincronismo e diffusione (**Figura 3.3**).

Attualmente, all'età di 7 anni, la bambina presenta una grave compromissione psichica e motoria caratterizzata da ritardo mentale severo, assenza di relazione, stereotipie manuali e dondolamento del tronco, assenza di linguaggio, significativa ipotonia assiale con possibile controllo del capo, e microcefalia evolutiva. E' presente inoltre iperlassità ligamentosa.

Numerose indagini metaboliche sono state eseguite nel corso degli anni, sempre con esito negativo. Cariotipo 46,XX. Non significativa è risultata la biopsia muscolare, mentre la RMN cerebrale eseguita nei primi anni di vita mostra lieve atrofia frontale e ritardo della mielinizzazione.

L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica frame shift: c.509_510delAG; p.Glu170fsX205 che produce una proteina tronca al residuo aminoacidico 205.

Paziente 4

La paziente 4 (età attuale 11 anni), unicogenita di genitori non consanguinei di origine marocchina senza familiarità per malattie neurologiche, nasce a 38 SG da parto eutocico dopo gravidanza decorsa con assunzione di terapia antibiotica con diaminocillina per lue materna. I parametri antropometrici alla nascita sono nella norma: peso 3,7 kg (75%ile), lunghezza 50.5 cm (25-50%ile), CC 35.5 cm (75%ile). Le indagini per lue e per altre infezioni congenite risultano negative e la perinatalità e la successiva crescita staturo-ponderale sono nella norma.

Dal primo mese di vita viene segnalata la comparsa di episodi critici focali con importante componente tonica caratterizzati da deviazione del capo, sguardo fisso od occhi revulsi, tonica elevazione degli arti più evidente a sinistra, e successive incostanti clonie palpebrali e generalizzate. Viene quindi iniziata terapia con fenobarbital a partire dai 2,5 mesi con scarso beneficio.

L'esame neurologico a tre mesi di vita denota la presenza di una relazione, un contatto visivo ed un tono assiale discreti, con frequenti movimenti di protrusione della lingua. L'EEG intercritico mostra una discreta organizzazione dell'attività elettrica in veglia e sonno, con presenza di onde lente in brevi sequenze a livello delle regioni posteriori e di isolate aguzze bifasiche, a livello delle regioni centrali, entrambe prevalenti a destra (**Figura 4.1** e **Figura 4.2**). Il monitoraggio EEG in sonno consente di registrare un episodio critico focale a probabile partenza dalle regioni centrali e del vertice (**Figura 4.3**). Nello stesso periodo vengono descritte crisi focali a semeiologia polimorfa, talora accompagnate da manifestazioni a tipo spasmo e seguite da importante fase tonica generalizzata.

Nei mesi successivi, nonostante i tentativi terapeutici con carbamazepina, vigabatrim, acetazolamide, la bambina continua a presentare episodi critici focali a cadenza pluriquotidiana e a partire dai 4,5 mesi - associati alle crisi - aumentano in frequenza gli spasmi in flessione, ora anche indipendenti, sia isolati che in serie. All'età di 6 mesi l'EEG intercritico di controllo evidenzia in veglia un'attività theta ampia, bilaterale, con anomalie a tipo punta, onda aguzza, a livello delle due regioni temporali, prevalenti a sinistra, frammiste a onde lente degradate ampie (**Figura 4.4**). In un mese si assiste ad un netto incremento dell'attività parossistica. Il tracciato diventa caratterizzato dalla presenza di anomalie multifocali di ampio voltaggio associate ad onde lente amplissime, prevalenti a livello delle due regioni temporali (**Figura 4.5**). Tale pattern si alterna nello stesso periodo a fasi in cui le anomalie diventano più bisincrone e riappare frammista attività della banda theta (**Figura 4.6**). La

terapia con vigabatrim ed in successione ACTH consentono, entrambe per alcuni mesi, un discreto controllo delle crisi - in particolare degli spasmi - e riduzione dell'attività parossistica, mentre persistono le crisi focali, con importante componente tonica, e crisi toniche (**Figura 4.7**). Con l'ingravescenza delle crisi dopo il quarto mese di vita si assiste inoltre ad un arresto dello sviluppo psichico e motorio, con perdita delle competenze sociali, peggioramento dell'ipotonia assiale, e comparsa di ipertono agli arti inferiori. A tale epoca può essere fatto risalire l'inizio della encefalopatia epilettica.

A partire dall'età di 14 mesi, cominciano inoltre a presentarsi mioclonie massive, isolate ed in serie, spesso seguite da pianto.

Nonostante i numerosi tentativi farmacologici, nel corso degli anni successivi la paziente sviluppa un'epilessia severa caratterizzata dalla persistenza di crisi a diversa semeiologia, pluriquotidiane, di breve durata, isolate ed in cluster, spesso seguite da sonno postcritico prolungato: mioclonie massive, crisi cloniche apparentemente generalizzate (**Figura 4.8**), crisi toniche (**Figura 4.9**) e crisi focali con deviazione del capo, seguite da clonie generalizzate. Nel tempo si assiste inoltre ad un progressivo rallentamento e perdita dell'organizzazione dell'attività EEG in veglia e sonno ed in particolare ricorrono e si alternano - con scarsa ed incostante correlazione alle modifiche terapeutiche - due pattern EEG: un pattern elettrico dominato da attività theta-delta, più ampia sulle due regioni anteriori, frammista ad anomalie multifocali a tipo onda aguzza (**Figura 4.10**) con fasi in cui prevalgono nettamente onde delta diffuse di ampio voltaggio con sovrascritte numerose punte, polipunte e onde aguzze (**Figura 4.11**); ed un pattern in cui si assiste ad un'accentuazione dell'attività parossistica sotto forma di subcontinui complessi onda aguzza-onda lenta amplissimi a livello delle due regioni frontali, associati a rare anomalie multifocali e ad attività theta frammista bilaterale scarsamente rappresentata in veglia (**Figura 4.12**).

Attualmente la paziente presenta una severa compromissione psichica e motoria, caratterizzata da profondo ritardo mentale, scarsa reattività, assente contatto visivo, tetraparesi con ipotonia assiale con scoliosi e spasticità agli arti inferiori, distonie a carico prevalentemente del distretto oro facciale, e disfagia con necessità di confezionamento di gastrostomia all'età di tre anni. Negli anni vi è stata inoltre una deflessione della velocità di crescita della circonferenza cranica e la bambina ha riportato frequenti fratture alle ossa lunghe nel contesto di un quadro di osteopenia. Ha sviluppato una deflessione della velocità di crescita della circonferenza cranica (75°->25°ile), e grave scoliosi.

I numerosi accertamenti eseguiti negli anni (tra cui esami metabolici su sangue, urine e liquor, i potenziali evocati multimodali, ed il cariotipo) non hanno evidenziato nulla di significativo. Le RMN cerebrali ripetute nel corso degli anni hanno evidenziato un costante peggioramento dell'atrofia, che a 3 mesi di età interessava i lobi frontali mentre al controllo a tre anni di età coinvolge tutta la corteccia cerebrale.

L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica, c.513C>G; p.Tyr171Stop, che - introducendo un codone di stop al residuo aminoacidico 171 posto all'interno del dominio catalitico - produce una proteina prematuramente tronca.

Paziente 5

La paziente 5 (età 15 mesi), di nazionalità inglese, terzogenita, è nata a termine da taglio cesareo dopo gravidanza normodecorsa, da genitori non consanguinei. Sorella maggiore con storia di convulsioni febbrili. La perinatalità è riferita nella norma. Parametri auxologici - peso, lunghezza e circonferenza cranica - al 50°ile.

La bambina già nei primi giorni di vita - usualmente al risveglio o in fase di addormentamento - comincia a presentare pluriquotidiani episodi critici

caratterizzati da sguardo spaventato, elevazione tonica degli arti superiori, deviazione dello sguardo verso l'alto e lateralmente, seguiti da clonie generalizzate agli arti superiori e inferiori, iperemia del volto e sonno post-critico (interpretate come crisi tonico cloniche apparentemente generalizzate). Pluriquotidiani movimenti improvvisi a tipo sobbalzo - suggestivi di mioclonie e/ o spasmi - sono inoltre segnalati fin dal primo giorno di vita, specie ma non solo dopo stimolo rumoroso.

Il primo EEG intercritico - registrato a 5 settimane - risulta sprovvisto di anomalie (non mostrato). L'avvio della terapia con fenobarbital determina un'iniziale riduzione in frequenza delle crisi che divengono plurisettimanali e una modificazione della semeiologia critica, con crisi ora caratterizzate da ipertono e successiva serie di spasmi a carico degli arti superiori. La RMN cerebrale in tale epoca viene riferita nella norma.

A tre mesi di vita, per la persistenza delle crisi epilettiche, viene associata al barbiturico per qualche settimana la vitamina B6 senza beneficio. Successivamente, essendo le crisi ritornate pluriquotidiane, viene introdotto a partire dai 6 mesi l'acido valproico, dapprima in monoterapia poi in associazione con la carbamazepina con minima riduzione in frequenza delle crisi.

A 8 mesi in occasione di una RMN di controllo viene sospettata la presenza di una displasia corticale frontale sinistra e posto il sospetto di un'epilessia focale sintomatica, non confermata nell'evoluzione. Un monitoraggio EEG prolungato a questa età rivela l'occorrenza di numerosi episodi critici con ipertono ed elevazione degli arti, deviazione del capo e dello sguardo, flushing al volto, caratterizzati dal punto di vista EEG da attività theta-delta generalizzata di ampio voltaggio (non mostrato).

A tale epoca la terapia in corso viene sospesa e viene intrapreso un trattamento farmacologico con Levetiracetam con ulteriore riduzione della frequenza delle crisi focali. Contemporaneamente, si assiste ad incremento

degli spasmi/mioclonie - isolati o in cluster pluriquotidiani in veglia e sonno - e perdita del contatto visivo, comparsa di stereotipie manuali tipo hand washing e di stagnazione dello sviluppo psichico e motorio, da sempre risultato ritardato dal punto vista delle competenze motorie (non ancora raggiunta posizione seduta autonoma a 9 mesi) e patologico dal punto di vista delle competenze psichiche per la presenza di scarso interesse per gli oggetti, anche se con relazione e sorriso sociali presenti.

L'EEG in veglia eseguito all'età di 11 mesi, quando la bambina giunge alla nostra osservazione, mostra attività theta di ampio ed amplissimo voltaggio, bilaterale prevalente a livello delle due regioni posteriori, frammista ad anomalie multifocali, prevalenti ed indipendenti a livello delle regioni posteriori, maggiormente a sinistra (**Figura 5.1**), incrementanti in frequenza in sonnolenza e sonno (non mostrato); numerosi spasmi isolati ed in brevi sequenze (**Figura 5.2**).

In questa fase, un iniziale trattamento dell'encefalopatia epilettica con ACTH, scarsamente tollerato dalla bambina, consente un parziale e transitorio controllo degli spasmi, anche se persistono crisi focali pluriquotidiane caratterizzate da deviazione verso l'alto e lateralmente dello sguardo, con incostanti movimenti masticatori. La successiva introduzione di Vigabatrim determina una significativa riduzione degli episodi critici e la bambina si presenta ora più attenta, con parziale recupero delle abilità sociali e dell'interazione visiva.

L'ultimo EEG disponibile all'età di 12 mesi dimostra attività theta-delta di basso voltaggio (recente trattamento con ACTH) con onde lente ampie e continue a livello delle regioni posteriori bilateralmente, in assenza di chiare anomalie epilettiformi (**Figura 5.3**).

Nel corso dei mesi sono sempre risultati negativi i numerosi esami metabolici eseguiti: aminoacidi plasmatici, profilo acilcarnitine, sulfi test, oligosaccaridi

urinari, mucopolisaccaridi urinari, acidi organici urinari. Il cariotipo ad alta risoluzione ha rivelato un cariotipo normale 46, XX. La RMN cerebrale di controllo a 12 mesi risultata nella norma, ridimensionando il significato della lieve asimmetria nella sostanza bianca in sede frontale che aveva alimentato l'ipotesi di displasia corticale. L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica: c.583T>C; p.Trp195Arg.

Paziente 6

Il paziente 6 (età 6,5 anni), primo figlio di genitori non consanguinei, è nato a termine dopo una gravidanza ed un parto vaginale decorsi regolarmente. Alla nascita il peso del bambino era pari a 2.9 kg (10-25%ile), la lunghezza 49 cm (10-25%ile) e la circonferenza cranica 33 cm (10-25%ile). L'immediato periodo perinatale viene riferito privo di complicazioni.

A 15 giorni di vita il bambino comincia a presentare sporadici spasmi in estensione e flessione, associati a mioclonie palpebrali ed automatismi orali, seguiti da iperestensione tonica ai 4 arti (spasmi tonici).

Con il tempo la frequenza delle crisi incrementa in modo significativo (5-10 cluster al giorno, ognuno con 10-15 spasmi).

Il bambino giunge ad una prima valutazione all'età di 3 mesi. Il primo EEG dimostra la presenza in corrispondenza degli spasmi di un'onda lenta diffusa di medio-ampio voltaggio, preceduta da una punta difasica più evidente sulle regioni centrali di entrambi gli emisferi, seguita da un breve appiattimento del tracciato (**Figura 6.1**), mentre l'attività EEG intercritica è normale in veglia con rare punte a livello delle regioni centrali (non mostrato) e sonno (**Figura 6.2**). La valutazione clinica rivela la presenza di microcefalia (CC di 38 cm, pari al 3%ile), moderata ipotonia generalizzata con scarso controllo del capo e ridotto contatto visivo sono clinicamente evidenti. Viene avviato con scarso risultato trattamento con acido valproico, nonostante il quale il bambino

continua a presentare crisi con frequenza crescente per tutto il primo anno di vita.

A partire dai sei mesi inoltre il bambino comincia a presentare crisi miocloniche generalizzate e crisi tonico cloniche apparentemente generalizzate. Contemporaneamente l'EEG comincia a presentare un progressivo rallentamento dell'attività di fondo in veglia (non mostrato) e sonno, con netta riduzione della rappresentazione delle figure fisiologiche (**Figura 6.3**).

All'età di un anno il bambino presenta un grave ritardo psichico e motorio, persiste l'ipotonia generalizzata, ed è presente un'epilessia severa, refrattaria ai diversi tentativi di trattamento farmacologico con topiramato, lamotrigina, levetiracetam, clonazepam, clobazam, idrocortisone, etosuccimide, fenobarbital, ed ACTH.

All'età di 2 anni il bambino comincia a presentare movimenti atetoidi e distonici agli arti e vengono osservati episodi di apnea privi di correlato EEG. A tale età il bambino non è in grado di stare seduto né di comunicare. Inoltre sono sempre più evidenti aspetti autistici del comportamento come l'assenza del contatto visivo e la presenza di stereotipi manuali. Nel frattempo, il bambino è cresciuto molto in lunghezza (oltre il 97°ile), mentre il peso e la circonferenza cranica sono significativamente al di sotto del 3°ile. La frequenza delle crisi è praticamente invariata: persistono spasmi seguiti da una fase tonica, crisi miocloniche e crisi tonico cloniche generalizzate. L'EEG intercritico in veglia (non mostrato) e in sonno è caratterizzato da attività elettrica scarsamente organizzata e rallentata e da numerosi parossismi costituiti da onde aguzze, punte, polipunte di ampio voltaggio, in sequenze bilaterali con tendenza alla sincronizzazione e frammentazione in sonno (**Figura 6.4**). Negli anni successivi il bambino non presenta alcuna acquisizione, né motoria, né psichica né relazionale.

Attualmente, all'età di 6,5 anni il bambino presenta alcune note dismorfiche facciali. Il suo quadro clinico è caratterizzato da una profonda compromissione cognitiva, marcata ipotonia, completa aposturalità, e persistenza di crisi di difficile controllo farmacologico a frequenza quotidiana o plurisettimanale, prevalentemente costituite da spasmi in flesso - estensione degli arti superiori accompagnati da mioclonie palpebrali e seguiti da iperestensione dei 4 arti. L'EEG intercritico in veglia è testimone di un'attività delta continua di ampio voltaggio con sovrapposti subcontinui parossismi a tipo onda aguzza, punta, e raramente polipunta, prevalenti sulle regioni centrali, con tendenza alla sincronizzazione (**Figura 6.5**), specie in sonno, dove tendono alla frammentazione assumendo un andamento cosiddetto pseudo periodico (non mostrato).

Numerose indagini, eseguite nel corso degli anni, sono risultate non significative (esami di laboratorio routinari, screening metabolico allargato, potenziali evocati multimodali e neurografia) con l'eccezione del cariotipo che ha rilevato la presenza di un assetto cromosomico 47,XXY - non tale però da spiegare la complessità e la gravità del quadro clinico presentato dal bambino. La RMN cerebrale, ripetuta all'età di 11 e 17 mesi, mostra una moderata atrofia dei lobi frontali ed una sfumata iperintensità nelle sequenze pesate in T2 nelle zone periventricolari. L'analisi molecolare del gene *CDKL5* ha rilevato la presenza in una mutazione nonsense patogenetica: c.1675C>T; p.Arg559Stop (*Sartori et al. 2009*).

4.1.2 Sinossi degli aspetti fenotipici comuni dei soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene *CDKL5*

Di seguito è riportato un riepilogo degli aspetti clinici, epilettologici, elettroencefalografici, e neuroradiologici dei pazienti identificati con mutazioni-malattia del gene *CDKL5*. Si consultino a questo proposito anche la **tabella 1** e la **tabella 2** (per le abbreviazioni vedi pagina successiva).

Tabella 1 Caratteristiche cliniche (pazienti CDKL5)	Paziente I c.609 G>C p.Glu203Asp	Paziente II c.213 A>G p.Asn71Asp	Paziente III c.509_510delAG p.E170fs	Paziente IV c.513 C>G p.Tyr171Stop	Paziente V c.583 T>C p.W195R	Paziente VI c.1675 C>T p.Agr559Stop
Età attuale	5 anni	5 anni	7 anni	11 anni	15 mesi	7 anni
Sesso	F	F	F	F	F	M (47, XXY)
Parametri auxologici Neonatali	PC 75° %ile L 90° %ile CC 75° %ile	PC 50-75° %ile L 25-50° %ile CC 98° %ile	PC 50° %ile	PC 75° %ile L 25-50° %ile CC 75° %ile	PC 50° %ile L 50° %ile CC 50° %ile	PC 10-25° %ile L 10-25° %ile CC 10-25° %ile
Età alla prima valutazione specialistica	10 sett.	16 sett.	12 sett.	8 sett.	5 sett.	12 sett.
Esame neurologico alla prima valutazione	relazione scarsa ipotonia assiale	relazione incostante ipotonia assiale	non disponibile	relazione contatto visivo tono assiale discreti	relazione inadeguata contatto visivo presente ipotonia assiale	relazione scarsa ipotonia assiale ridotto contatto visivo
Sviluppo motorio successivo	controllo capo 5 m seduta+appoggio 8 m lallazione 8 m	controllo capo 6 m rotolo 8 m afferra 8 m lallazione 10 m	controllo capo 3 m seduta 8 m	controllo capo 2,5 m mai seduta autonoma no altre acquisizioni	controllo capo 4 m seduta+appoggio 6 m afferra se stimolata	controllo capo 7 m seduto+appoggio 11 m
Regression	dai 18 mesi	dai 20 mesi	dai 13 mesi	dai 5 mesi	dagli 8 mesi	non determinabile
Crescita della testa	lieve rallentamento	macrocrania (familiare)	microcefalia acquisita	microcefalia acquisita	normale	microcefalia acquisita
Esame neurologico attuale	ritardo mentale severo ipotonia grave	ritardo mentale severo ipotonia grave distonie	ritardo mentale severo ipotonia grave	ritardo mentale severo ipotonia grave spasticità arti inferiori	ritardo mentale ipotonia disprassia manuale	ritardo mentale severo ipotonia grave distonie
Contatto visivo	scarso/fluttuante	assente	assente	assente	presente/sorriso	assente
Linguaggio	assente	assente	assente	assente	assente	assente
Best performance motoria	controllo del capo	controllo del capo	controllo del capo	controllo del capo	controllo del capo / emirotole	controllo del capo
Stereotipie manuali	si + protrusione lingua	si	si + dondolamento	no	si	si
Disautonomie	No	no	no	no	no	apnee

Tabella 2 Tipo di crisi ed EEG nel tempo (pazienti CDKL5)	Paziente I c.609 G>C p.Glu203Asp	Paziente II c.213 A>G p.Asn71Asp	Paziente III c.509_510delAG p.E170fs	Paziente IV c.513 C>G p.Tyr171Stop	Paziente V c.583 T>C p.W195R	Paziente VI c.1675 C>T p.Agr559Stop
Età attuale	5 anni	5 anni	7 anni	11 anni	15 mesi	7 anni
Età esordio crisi	6 sett.	16 sett.	12 sett.	4 sett.	1 sett.	2 sett.
Età alla prima valutazione specialistica	10 sett.	16 sett.	12 sett.	8 sett.	5 sett.	12 sett.
Crisi all'esordio	spasmi e/o mioclonie isolati e in serie crisi focali +/-spasmi/mioclonie	spasmi e/o mioclonie isolate e in serie crisi focali +/-spasmi/mioclonie	crisi TC	crisi focali (toniche) +/- clonie generalizzate +/- spasmi	spasmi e/o mioclonie isolati crisi TC	spasmi in serie spasmi tonici +/- mioclonie palpebrali
EEG intercritico alla prima valutazione	AF nella norma (V/S) OL (C dx e vertice) rare punte	AF nella norma (V/S) OL, P, OA, P-OA multifocali	AF nella norma	AF nella norma (V/S) OL (post) OA (C dx>sx)	AF nella norma	AF nella norma (V/S) P (C bilat.)
Crisi all'inizio dell'encefalopatia epilettica	crisi toniche crisi focali crisi miocloniche mioclonie c. toniche + spasmi + mioclonie	crisi toniche mioclonie massive	spasmi in serie crisi focali crisi focali + spasmi	spasmi isolati/in serie crisi toniche crisi focali +/- spasmi	spasmi/spasmi tonici crisi focali	spasmi tonici crisi miocloniche crisi TC generalizzate
EEG all'inizio dell'encefalopatia epilettica	attività theta ampia (>FC bilat.) P, OA, PO multifocali tendenti alla sincronizzazione in sonno burst di anomalie sincrone	non disponibile	attività theta/delta ampia (>F) P, PP, OA multifocali (>F bilat.) tendenti alla sincronizzazione burst di anomalie sincrone	attività theta/delta ampia (>O) P, OA, OL multifocali (>T bilat.) tendenti alla sincronizzazione	attività theta ampia (>O) P, OA, PP multifocali (>O)	attività delta diffusa monomorfa ampia anomalie multifocali tendenti alla sincronizzazione
Crisi all'ultima valutazione	mioclonie crisi miocloniche crisi focali +/- componente tonica crisi TC	crisi miocloniche crisi toniche (4 anni)	mioclonie crisi focali spasmi tonici crisi toniche crisi TC	crisi miocloniche crisi focali crisi toniche crisi cloniche		mioclonie spasmi crisi toniche
EEG all'ultima valutazione	burst di anomalie sincrone ad andamento pseudoperiodico	non disponibile	burst di anomalie sincrone ad andamento pseudoperiodico	attività theta/delta + P, PP, OA multifocali + OA-OL bifrontali subcontinui		attività delta ampia P, OA, PP (> C) tendente alla sincronizzazione ad andamento pseudoperiodico
Frequenza crisi attuale	pluriquotidiana	pluriquotidiana	pluriquotidiana	pluriquotidiana		quotidiana o pluriquotidiana

Abbreviazioni: F femmina; M maschio; PC peso corporeo; L lunghezza; CC circonferenza cranica; m mesi; TC tonico cloniche; F frontale; C centrale; T temporale; O occipitale; > prevalente; P punta; OA onda aguzza; PO complesso punta onda; PP polipunta; OL onda lenta; OA-OL complesso onda aguzza onda lenta; V/S in veglia e sonno.

Aspetti clinici generali e neurologici

Si tratta di 6 soggetti, 5 femmine ed un maschio con cariotipo 47, XXY. L'età media attuale è di 5,8 anni (range 15 mesi - 11 anni) e l'età media al momento della diagnosi molecolare è pari a 4,5 anni (range: 11 mesi - 10 anni e 3 mesi). La storia familiare, l'andamento della gravidanza e l'immediato periodo perinatale non sono significativi. Si segnala in un soggetto un lieve distress respiratorio complicato da pneumotorace spontaneo (*pz 1*). I parametri antropometrici alla nascita sono nella norma, se si fa eccezione per una macrocrania costituzionale in un soggetto (*pz 2*).

Lo sviluppo psicomotorio al momento della prima valutazione è ritardato in tutti i soggetti mutati. A tale epoca inoltre l'esame neurologico, disponibile in 5 soggetti, è testimone della presenza di ipotonia assiale in tutti i soggetti e di contatto visivo e/o relazione scarsi o incostanti o inadeguati in 4 soggetti (*pz 1, 2, 4, 6*).

Con l'ingravescenza delle crisi epilettiche e/o dell'attività parossistica intercritica è riconoscibile in tutti i pazienti una regressione delle già compromesse competenze psichiche, motorie e relazionali che - con un certo grado di approssimazione - inizia in media all'età di 12 mesi (range 5 mesi - 18 mesi). Si verifica un concomitante progressivo rallentamento della velocità di crescita della circonferenza cranica in 4 soggetti (*pz 1, 3, 5, 6*) con lo sviluppo di microcefalia in 2 soggetti (*pz 3, 6*).

Alla più recente valutazione clinica disponibile, i cinque soggetti più vecchi (età media 7 anni; range 5 - 11 anni) presentano tutti una grave compromissione cognitiva ed un quadro di ipotonia globale marcato. La

relazione ed il contatto visivo sono assenti in 4 soggetti e scarsi e fluttuanti in un soggetto (*pz 1*). Il linguaggio è assente in tutti i soggetti. In tre soggetti (*pz 2, 4, 6*) sono presenti distonie. 4 soggetti (*1, 2, 3, 6*) hanno sviluppato stereotipie manuali, 1 soggetto presenta stereotipie tipo dondolamento del tronco (*pz 3*), ed 1 soggetto presenta ripetuti movimenti di protrusione della lingua (*pz 1*). Solo un soggetto (*pz 6*) presenta turbe del respiro.

Aspetti epilettologici

L'epilessia costituisce il sintomo di presentazione in tutte i nostri pazienti, e solo in un caso (*pz 3*) le manifestazioni critiche iniziali non sono state correttamente inquadrare come tali da subito. L'età media a cui può essere fatto risalire l'esordio delle manifestazioni critiche è di 7 settimane di vita (range: da 1 a 16 settimane di vita), anche se i bambini giungono alla prima valutazione medica specialistica per questo motivo all'età media di 10 settimane (range: da 5 a 16 settimane di vita).

Dall'anamnesi epilettologica e dalle prime registrazioni critiche eseguite, si evince che le crisi all'esordio sono rappresentate da manifestazioni motorie brusche a tipo **spasmi e/o mioclonie** talora senza chiaro correlato EEG, isolate o in serie (4/6 soggetti: *pz 1, 2, 5, 6*), **crisi focali** (3/6 soggetti: *pz 1, 2, 4*) in un caso con marcata componente tonica e secondaria generalizzazione (*pz 4*), **crisi tonico-cloniche** apparentemente generalizzate (2/6 soggetti: *pz 3, 5*), **spasmi tonici** (1/6 soggetti: *pz 6*). In 4 soggetti vi è fin dall'esordio la ricorrenza di più tipi di crisi (*pz 1, 2, 5, 6*), con l'associazione di crisi focali e spasmi e/o mioclonie nell'ambito dello stesso evento in 3 soggetti (*pz 1, 2, 4*). Le singole crisi sono spesso pluriquotidiane e di breve durata, in genere inferiore ad 1 minuto. Dopo iniziale trattamento vi è un transitorio periodo libero da crisi in 2 soggetti (*pz 1, 3*) anche se in uno di questi persistono crisi minori a tipo spasmo e/o mioclonie non riconosciute inizialmente come tali dai genitori (*pz 1*). Negli altri soggetti persiste con scarsa possibilità di

controllo farmacologico il medesimo tipo di crisi descritto alla prima valutazione, a cui si aggiungono altri tipi di crisi solo in un soggetto (crisi miocloniche generalizzate e tonico cloniche apparentemente generalizzate nel *pz 6*). In un altro soggetto, crisi precedentemente indipendenti, si verificano spesso nel contesto di un unico evento (crisi toniche e spasmi nel *pz 5*).

Con l'ingravescenza delle crisi epilettiche e/o dell'attività parossistica intercritica si assiste ad una regressione delle competenze psichiche, motorie e/o relazionali, e contemporaneamente si configura da un punto di vista elettroclinico un quadro di encefalopatia epilettica che inizia in media all'età di 12 mesi (range 5 mesi - 20 mesi). In tale fase i tipi prevalenti di crisi epilettiche sono rappresentati da: **spasmi/spasmi tonici**, isolati e/o in serie, in 5 soggetti (*pz 1, 3, 4, 5, 6*), **crisi focali** in 4 soggetti (*pz 1, 3, 4, 5*), **crisi toniche** in 3 soggetti (*pz 1, 2, 4*), **mioclonie/crisi miocloniche** in 3 soggetti (*pz 1, 2, 6*), **crisi tonico-cloniche** apparentemente (*pz 6*) o secondariamente (*pz 1*) generalizzate, e commistioni di più tipi di crisi in 3 soggetti (*pz 1, 3, 4*), toniche o focali + mioclonie e/o spasmi. Tale quadro epilettologico - pur con fluttuazioni incostantemente correlate con le modifiche terapeutiche - persiste nel tempo configurando un'epilessia severa, refrattaria ad ogni trattamento farmacologico. Nessuno dei soggetti per i quali è disponibile un follow up discretamente lungo con età superiore o uguale a 5 anni (*pz 1, 2, 3, 4, 5*) diventa seizures free o presenta un discreto controllo delle crisi epilettiche.

Alla più recente valutazione clinica disponibile, i cinque soggetti più vecchi (età media 7 anni; range 5 - 11 anni) presentano ancora un estremo polimorfismo delle crisi, con frequenza quotidiana o pluriquotidiana (*pz 1, 2, 3, 4, 6*). I tipi di crisi presenti comprendono: **mioclonie/crisi miocloniche** in 5 soggetti (*pz 1, 2, 3, 4, 6*); **crisi toniche** in 4 soggetti (*pz 2, 3, 4, 6*); **crisi focali** in 3 soggetti (*pz 1, 4, 3*), motorie in 2 soggetti (*pz 1, 4*), con componente

tonica (*pz 1*); **crisi tonico cloniche** in 2 soggetti (*pz 1, 3*) secondariamente (*pz 1*) o apparentemente generalizzate (*pz 3*); **spasmi / spasmi tonici** in 2 soggetti (*pz 6, 3*); **crisi cloniche** in 1 soggetto (*pz 4*) apparentemente o secondariamente generalizzate.

Aspetti EEG

L'EEG intercritico all'epoca della prima valutazione specialistica è caratterizzato da una normale organizzazione dell'attività elettrica in veglia e sonno in tutti i pazienti, con frammentate onde lente (3/6 soggetti: *pz 1, 2, 3*) ed rare anomalie epilettiformi (4/6 soggetti: *pz 1, 2, 3, 6*) in genere multifocali (3/6 soggetti: *pz 2, 3, 6*). Gli EEG critici relativi all'epoca della prima valutazione sono disponibili e riportati in appendice in 4 soggetti, testimoniando la presenza di crisi focali in 3 soggetti (*pz 1, 2, 4*), spasmi e mioclonie con incerto correlato EEG in 2 soggetti (*pz 1, 2*) e spasmi con chiaro correlato elettrico in 1 soggetto (*pz 6*).

Gli EEG intercritici disponibili (*pz 1, 2, 4, 6*) nei mesi successivi alla prima valutazione mostrano un progressivo deterioramento dell'attività elettrica, con rallentamento e/o aumento dei voltaggi dell'attività di fondo in veglia (*pz 1, 2, 4, 6*) e/o sonno (*pz 1, 2, 4, 6*) e con riduzione delle figure ipniche fisiologiche (*pz 1, 2, 4, 6*), ed un incremento dell'attività parossistica intercritica multifocale (*pz 1, 2, 4*), con tendenza a sincronizzazione delle anomalie (*pz 2* all'età di 10 mesi). In 2 pazienti, la documentazione disponibile, consente di riconoscere, già in tale fase, la comparsa di un'attività theta inabituale di medio-ampio voltaggio sulle regioni temporo-occipitali (*pz 2* a 7 mesi, *pz 4* a 5 ½ mesi) su cui si sovrascrivono le anomalie multifocali.

Gli EEG intercritici relativi alla fase in cui si sviluppa l'encefalopatia epilettica sono disponibili in 5 soggetti. I pattern elettrici registrati in tale fase sono diversi e nell'ambito di uno stesso soggetto è possibile riscontrare

fluttuazione dell'attività elettrica spesso senza relazione con i trattamenti eseguiti e/o con l'andamento delle crisi. Il pattern elettrico evolutivo riconoscibile nella maggior parte dei soggetti mutati (4/6 soggetti) è costituito da: attività theta, scarsamente o non reagente, di ampio o amplissimo voltaggio (*pz 1, 3, 4, 5*) frammista ad onde lente (*pz 4*), più evidente sulle regioni anteriori (*pz 1, 3*) o posteriori (*pz 4, 5*) frammista ad anomalie multifocali di ampio voltaggio (a tipo punta e polipunta, onda aguzza, complessi punta e polipunta-onda), più frequenti ed ampie in sonno, che aumentano in frequenza con il tempo (*pz 1, 3, 4, 5*), con la tendenza a divenire sincrone sui due emisferi specie in sonnolenza e/o sonno (*pz 1, 3, 4*), fino a costituire burst di anomalie diffuse che in sonno assumono andamento pseudo periodico (*pz 1, 3*). Un pattern simile è costituito da attività theta-delta diffusa (*pz 4*) o attività delta monomorfa (*pz 6*) di ampio voltaggio, scarsamente o non reagente, frammista ad anomalie multifocali (*pz 4, 6*) con la tendenza alla sincronizzazione e frammentazione (*pz 6*) oppure frammista ad anomalie bi frontali subconibue (*pz 4*). Non è chiaramente riconoscibile nei pazienti descritti un pattern ipsaritmico tipico. Gli EEG critici relativi a questa fase sono disponibili e riportati in appendice in 4 soggetti, testimoniando la presenza di crisi toniche (*pz 1, 4*) e spasmi/spasmi tonici (*pz 5, 6*).

L'evoluzione del pattern EEG intercritico nei quattro soggetti più vecchi di cui è disponibile l'iconografia (*pz 1, 3, 4, 6*) è testimone in 2 casi di un rallentamento dell'attività inabituale ampia descritta in precedenza per incremento di componenti delta ampie ed amplissime (*pz 1, 4, 6*), e di una sempre più marcata tendenza delle anomalie multifocali ad essere sincrone ed a raggrupparsi in burst - specie in sonnolenza e sonno - che si susseguono con un andamento cosiddetto pseudo periodico (*pz 1, 3, 6*). Gli EEG critici relativi a questa fase sono disponibili e riportati in appendice in 3 soggetti,

testimoniando la presenza di crisi toniche (*pz 3, 4*), crisi focali (*pz 1*), crisi clonica apparentemente generalizzata (*pz 5*).

Neuroimaging

La prima risonanza magnetica cerebrale eseguita in tutti i soggetti ad un'età media di 6 mesi (range: 2 mesi - 13 mesi) evidenzia una lieve-moderata atrofia cerebrale in 3 soggetti (*pz 2, 4, 6*) con la presenza iperintensità T2 periventricolari in un soggetto (*pz 6*). Un controllo RMN eseguito in 5 soggetti (*pz 1, 3, 4, 5, 6*) ad un'età media di 20 mesi (range: 8 mesi - 36 mesi), risulta invariata in 1 soggetto (*pz 6*), mostra un ritardo di mielinizzazione in 3 soggetti (*pz 1, 3, 5*), la comparsa di atrofia cerebrale fronto-temporo-insulare in 1 soggetto (*pz 3*) ed il peggioramento dell'atrofia in un soggetto (*pz 4*).

Altre caratteristiche

Sono state valutate in modo comparativo le caratteristiche somatiche, in particolare del viso, dei soggetti affetti. I risultati di tale lavoro hanno consentito di individuare nella maggior parte dei soggetti alcuni aspetti facciali caratteristici e dimorfismi minori di seguito riportati: occhi grandi ed infossati, ipertelorismo, narici anteverse, punta nasale bulbosa, labbro superiore sottile e labbro inferiore prominente, bocca larga, lingua protrusa e mento affilato. Si veda a titolo esemplificativo l'immagine del paziente 6 riportato in letteratura (*Sartori et al. 2009*).

E' in preparazione un lavoro collaborativo internazionale, in cui rientreranno anche i soggetti da noi descritti, con l'obiettivo di confermare l'esistenza di una facies peculiare.

4.2 RISULTATI DELLO SCREENING MUTAZIONALE DEL GENE ARX NEL CAMPIONE RECLUTATO

Nel campione analizzato sono stati identificati 3 soggetti, tutti di sesso maschile, con mutazioni-malattia del gene *ARX* per un totale di due mutazioni: una *de novo* e l'altra familiare, essendo stata riscontrata in 2 figli di sorelle gemelle monozigoti.

Di seguito le mutazioni identificate del gene *ARX*, riportate secondo la corrente nomenclatura: c.1611T>C; p.Leu537Pro / c.1604T>A; p.Leu535Gln.

4.2.1 Breve descrizione clinica dei singoli soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene ARX

Qui di seguito sono riportati in sintesi la storia ed i profili elettroclinici dei pazienti identificati con mutazioni-malattia del gene *ARX*, di età attuale compresa tra i 2 e i 16 anni. Si veda a questo proposito anche la **tabella 3** al paragrafo 4.2.2. La definizione dei fenotipi dei soggetti mutati è inoltre integrata in appendice dalla presentazione a carattere esemplificativo di alcuni tracciati elettroencefalografici critici ed intercritici, con relative didascalie, relativi ai singoli pazienti nelle diverse fasi di vita.

L'età media al momento della diagnosi molecolare era pari a 5,7 anni (range: 1 anno e 1 mese - 14 anni e 6 mesi).

Paziente 7

Il paziente 7 (età 16 anni), primogenito da genitori non consanguinei, è nato a termine da parto eutocico dopo gravidanza normodecorsa. Non vengono riferiti antecedenti familiari significativi relativamente a patologie neurologiche ed epilessia. La perinatalità è decorsa regolarmente. Il peso alla nascita è pari a 3,460 (50%ile), la lunghezza 53 cm (50-75%ile), e la circonferenza cranica 34 cm (25%ile). Non vengono segnalati aspetti dismorfici.

Fin dai primi giorni di vita viene segnalata lieve ipotonia assiale, suzione ipovalida ed abbondanti rigurgiti. La madre nota da subito la presenza di episodi caratterizzati da bruschi soprassalti.

Per la comparsa di spasmi in cluster, il bambino è ricoverato alla fine della prima settimana di vita ed il primo EEG documenta un pattern elettrico a tipo di suppression burst, con anomalie multifocali diffuse e brevi depressioni di scarica (**Figura 7.1**). Vengono registrati spasmi in flessione, mioclonie massive e brevi crisi toniche con componente focale (deviazione del capo e degli occhi verso destra o sinistra).

Compaiono nell'arco del primo mese di vita anche crisi focali caratterizzate da rossore al volto, rumore gutturale, movimenti di degustazione, accompagnate incostantemente da clonie palpebrali.

L'andamento dell'epilessia nel tempo è stato quello di un'encefalopatia epilettica con crisi farmacoresistenti inizialmente con le caratteristiche elettrocliniche di Sindrome di Othahara, quindi di Sindrome di West, atipica per l'assenza di una vera ipsaritmia.

Attualmente - all'età di 16 anni - il quadro elettroclinico è quello di una Sindrome Lennox-Gastaut-like con persistenza di crisi toniche, crisi parziali, mioclonie massive, nonostante i numerosi tentativi farmacologici, compresi ripetuti cicli di ACTH, somministrati con miglioramento sempre parziale e transitorio.

All'EEG persistono anomalie multifocali a tipo di Punta-Onda e Poli Punta-Onda asincrone sui due emisferi con tendenza alla diffusione (**Figura 7.2**).

Sul piano neurologico il quadro di iniziale ipotonia è andato evolvendo verso una tetraparesi ipotonico-distonica grave con aposturalità ed assenza del controllo del capo con ritardo mentale profondo. Nessuna acquisizione è stata raggiunta né sul piano relazionale né su quello del linguaggio.

All'età di 3 anni ricovero in rianimazione per stato di male parziale con insufficienza respiratoria. Da allora il bambino è portatore di tracheostomia.

Negli anni sono state eseguite numerose ed estensive indagini metaboliche (acidi organici urinari, aminoacidi plasmatici, urinari e liquorali, VLCFA), la biopsia di muscolo e di cute, sempre risultate non significative. TAC e RMN cerebrali eseguite nel primo anno di vita sono risultate nella norma; un controllo della RMN cerebrale a 13 anni ha evidenziato una moderata atrofia cerebrale con moderata dilatazione ventricolare ed assottigliamento del corpo calloso e la presenza di una cisti aracnoidea del polo temporale di destra con ipoplasia relativa delle regioni frontali, in assenza di malformazioni corticali. Cariotipo standard ed array-CGH sono risultati nella norma. L'analisi molecolare del gene *ARX* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica: c.1611T>C; p.Leu537Pro.

Pazienti 8 e 9

I pazienti 2 e 3 sono figli di due sorelle gemelle monozigoti. Uno zio materno, morto all'età di due anni durante uno stato di male epilettico prolungato, è riferito affetto da una grave encefalopatia epilettica esordita in età neonatale, caratterizzata da spasmi, ed evoluta in un'epilessia focale farmaco resistente.

Paziente 8

Il paziente 8 (età 2 anni), primo figlio di due genitori non consanguinei, è nato a termine da parto distocico con applicazione di ventosa dopo una gravidanza riferita regolare. Il peso alla nascita era pari a 2,38 kg (< 3%ile) e la circonferenza cranica pari a 31 cm (< 3%ile).

A 20 giorni di vita, specialmente in addormentamento, viene riferita la comparsa di spasmi tonici in cluster associati a mioclonie erratiche. L'EEG eseguito a tale età dimostra un pattern di burst suppression, che - tenuto conto anche del tipo di manifestazioni cliniche critiche - consente di formulare la diagnosi di Sindrome di Ohtahara (**Figura 8.1**). Fin da subito il bambino presenta un severo ritardo psichico e motorio, accompagnato da

un'importante ipotonia normo riflessica di verosimile origine centrale e dall'assenza di contatto visivo.

Viene iniziata senza effetto terapia con ACTH ed in successione vigabatrim. Solo dopo l'introduzione dell'acido valproico si assiste ad una riduzione della frequenza degli spasmi. Nel frattempo si assiste ad evoluzione del pattern EEG, simil-ipsaritmico dall'età di 7 mesi.

Attualmente all'età di 2 anni, il bambino presenta una grave compromissione neurologica, caratterizzata da microcefalia senza aspetti dismorfici con genitali normoconformati e pene di normale dimensioni, profondo ritardo mentale, assenza di relazione, tetraparesi ipotonica con segni piramidali agli arti inferiori e parziale controllo del capo, e necessità di nutrizione per gavage. Nonostante la terapia farmacologica, persistono spasmi isolati quotidiani e dall'età di circa un anno occorrono crisi motorie, apparentemente toniche (**Figura 8.2**). L'EEG è caratterizzato da alcuni mesi da complessi punta onda lenta bilaterali subcontinui (**Figura 8.3**).

Numerose ed estensive indagini metaboliche sono state eseguite senza alcun risultato positivo. La RMN cerebrale eseguita all'età di 6 mesi è risultata normale, mentre la sua ripetizione a 22 mesi ha mostrato i segni di una diffusa atrofia cerebrale. Il cariotipo standard, integrato dall'analisi dei riarrangiamenti subtelomerici, è risultato normale. L'analisi molecolare del gene *ARX* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica: c.1604T>A; p.Leu535Gln. (*Giordano, Sartori et al. AJMG submitted 2009*)

Paziente 9

Il paziente 9 (età 3 ½ anni) è il secondo figlio di genitori non consanguinei. Il padre è riferito aver sofferto di epilessia rolandica in infanzia. Gravidanza, parto e parametri auxologici alla nascita sono riferiti nella norma, in particolare circonferenza cranica di 33 cm (10%ile).

A partire dal sesto giorno di vita vengono riferite crisi focali, caratterizzate da clonie a carico dell'emisoma di destra, e brevi crisi cloniche generalizzate. L'EEG eseguito a tale età mostra un pattern tipo burst suppression, che indirizza verso la diagnosi di Sindrome di Ohtahara (**Figura 9.1**). Vitamina B6, fenobarbital e midazolam vengono utilizzati con scarso successo.

All'età di due mesi il bambino comincia a presentare crisi focali motorie polimorfe associate a spasmi tonici in cluster, evolvendo verso un'encefalopatia epilettica resistente a vigabatrim, dintoina, ed ACTH. L'EEG diventa quindi simil-ipsaritmico (**Figura 9.2**). Negli anni successivi il ricorso ad altri trattamenti farmacologici (lamotrigina, carbamazepina, clobazam ed acido valproico) non modifica la frequenza delle crisi.

Attualmente all'età di tre anni e mezzo, il bambino presenta un quadro di grave compromissione neurologica, caratterizzato da microcefalia acquisita senza note dismorfiche e con genitali normoconformati e di normali dimensioni, ritardo mentale profondo, assenza di contatto visivo e di controllo del capo, tetraparesi spastica (con componente distonica) con necessità di nutrizione per sondino nasogastrico. Il bambino presenta attualmente crisi focali e spasmi pluriquotidiani ed episodi di difficoltà respiratoria. L'EEG mostra subcontinui complessi punta-onda lenti bilaterali (**Figura 9.3**).

I numerosi esami metabolici eseguiti (lattato ed ammonio ematici, aminoacidi plasmatici, VLCFA, elettroforesi delle sialotransferrine, purine and pirimidine, sulfi-test, cupremia e ceruloplasmina, esame chimico fisico del liquor e dosaggio dei neurotrasmettitori liquorali, acidi organici urinari) sono risultati negativi. La RMN cerebrale eseguita a 6 giorni di vita non ha mostrato aspetti patologici, mentre ripetuta a 2 anni rileva una diffusa atrofia cerebrale. Il cariotipo standard è 46, XY. L'analisi molecolare del gene *ARX* ha rilevato la presenza in una mutazione patogenetica: c.1604T>A; p.Leu535Gln. (*Giordano, Sartori et al. AJMG submitted 2009*)

4.2.2 Sinossi degli aspetti fenotipici comuni dei soggetti identificati con mutazioni-malattia del gene *ARX*

Di seguito è riportato un riepilogo degli aspetti clinici, epilettologici, elettroencefalografici, e neuroradiologici dei pazienti identificati con mutazioni-malattia del gene *ARX*. Si consulti a questo proposito anche la **tabella 3**.

Aspetti clinici generali e neurologici

Si tratta di 3 soggetti di sesso maschile, di cui due figli di sorelle gemelle omozigoti. Presentano un'età attuale media di 7 anni (range: 2 anni - 16 anni) e l'età media al momento della diagnosi molecolare è pari a 5,7 anni (range: 1 anno e 1 mese - 14 anni e 6 mesi).

La storia familiare è muta in 1 soggetto (*pz 7*), mentre è positiva negli altri 2 (*pz 8, 9*) per la presenza di uno zio paterno deceduto per un quadro probabilmente simile. Gravidanza e parto sono decorsi regolarmente, salvo necessità di applicazione di ventosa in 1 soggetto. I parametri antropometrici alla nascita sono nella norma in 2 soggetti (*pz 7, 9*), mentre un soggetto risulta essere small for gestational age e presenta microcefalia congenita (*pz 8*). La perinatalità decorre regolarmente in 2 soggetti (*pz 8, 9*), in 1 soggetto è presente difficoltà di alimentazione per suzione ipovalida e rigurgiti (*pz 7*).

L'esame neurologico alla prima valutazione denota una marcata ipotonia ed una compromissione della relazione in tutti i soggetti.

Negli anni successivi non vi è stata alcuna acquisizione, né motoria né relazionale nei tre soggetti.

Il quadro neurologico attuale è caratterizzato in tutti da ritardo mentale profondo con tetraparesi, ipotonico-distonica nel *paziente 7*, ipotonica con

piramidalismo agli arti inferiori nel *paziente 8*, e spastica con componente distonica nel *paziente 9*. Il *paziente 7* è portatore di tracheotomia; i *pazienti 8* e *9* si nutrono per gavage. Il *paziente 9* ha sviluppato microcefalia evolutiva.

Aspetti epilettologici

L'epilessia costituisce il sintomo di presentazione in tutti e tre i soggetti mutati. L'età media cui può essere fatto risalire l'esordio delle manifestazioni critiche è di circa 8 giorni di vita (range: da 0 a 20 giorni di vita), anche se i bambini giungono ad osservazione medica specialistica per questo motivo all'età di circa 11 giorni (range: da 6 a 20 giorni di vita).

In base alle prime registrazioni critiche eseguite ed a quanto è possibile dedurre dall'anamnesi epilettologica e quindi dal racconto dei genitori, le crisi all'esordio - dall'età di insorgenza delle crisi all'età della prima valutazione - sono rappresentate da: **spasmi** e **spasmi tonici** in serie in 2 soggetti (*pz 7, 8*); **mioclonie** in 2 soggetti (*pz 7*) massive in 1 soggetto (*pz 7*) ed erratiche in 1 soggetto; **crisi toniche** in 1 soggetto (*pz 7*) con componente focale (*pz 7*); **crisi focali** emisomiche in 1 soggetto (*pz 9*) e **cloniche generalizzate** in 1 soggetto (*pz 9*). In considerazione del quadro clinico, epilettologico ed EEG (vedi anche sezione successiva relativa agli aspetti EEG) a tale età viene formulata in tutti e tre i soggetti la diagnosi di epilessia neonatale severa con suppression burst (nell'ambito delle epilessie/sindromi generalizzate sintomatiche ad eziologia sconosciuta, ILAE 1989). In particolare in due soggetti (*pz 8* e *pz 9*) l'inquadramento epilettologico si indirizza maggiormente verso la Early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst (EIEE) o Ohtahara Syndrome in considerazione del pattern EEG suggestivo e della presenza di spasmi tonici nel *paziente 8* ed in considerazione del pattern EEG compatibile e della presenza di crisi cloniche emisomiche nel *paziente 9*, piuttosto che verso la Early neonatal myoclonic encephalopathy (EME) in considerazione della negatività degli esami

metabolici e dell'assenza di mioclonie massive *nel paziente 8*, e della negatività degli esami metabolici e dell'assenza di mioclonie *nel paziente 9*, nonostante le atipie riscontrabili in entrambi i casi (presenza di mioclonie erratiche *nel pz 8*, più tipiche nell'EME; assenza in entrambi di alterazioni strutturali alla RMN cerebrale, spesso attese nell'EIEE). Analogamente anche per il *paziente 7* è corretto un inquadramento all'interno della Sindrome di Ohtahara in considerazione complessivamente del tipo di tracciato, del tipo di crisi (crisi toniche e spasmi), nonostante l'atipia delle numerose mioclonie massive. Nei primi mesi di vita compaiono inoltre crisi focali in 2 soggetti (*pz 7* entro il primo mese, *pz 9* a due mesi di età), associate a spasmi tonici in cluster in 1 pz (*pz 9*).

Negli anni successivi tutti e tre i soggetti hanno continuato a presentare un quadro di encefalopatia epilettica con crisi farmaco resistenti. In tutti e tre vi è stata l'evoluzione in una Sindrome di West atipica (*pz 7, 8, 9*), e successivamente in una Sindrome di Lennox-Gastaut in 1 soggetto (*pz 7*).

Alla più recente valutazione clinica disponibile, i tre soggetti (età media 7 anni, range 2 - 16 anni) presentano un estremo polimorfismo delle crisi, con frequenza quotidiana e/o pluriquotidiana (*pz 8, 9*): **spasmi** (*pz 8, 9*), **crisi toniche** (*pz 7, 8*), **crisi parziali** (*pz 7, 9*), **crisi miocloniche** (*pz 7*).

Aspetti EEG

L'EEG intercritico all'epoca della prima valutazione specialistica (età media 11 giorni; range 6 - 20 giorni) è caratterizzato da un pattern di suppression burst tipico in 2 soggetti (*pz 8, 9*), e da un pattern di suppression burst atipico - con anomalie multifocali diffuse e brevi depressioni di scarica - in 1 soggetto (*pz 7*).

Nel tempo tutti e tre i soggetti presentano un'evoluzione verso un pattern simil-ipsaritmico o ipsaritmico atipico.

All'ultima valutazione disponibile l'EEG è testimone della presenza di anomalie multifocali a tipo di punta-onda e polipunta-onda asincrone sui due emisferi con tendenza alla diffusione (pz 7), e di anomalie subcontinue a tipo complessi punta-onda lenta bilaterali e sincroni (pz 8, 9).

Neuroimaging

La prima risonanza magnetica cerebrale eseguita in tutti i soggetti nel corso del primo anno di vita è risultata normale. Il controllo eseguito in tutti e tre i soggetti ad un'età media di età 1,5 anni (range: 22 mesi - 13 anni) evidenzia atrofia cerebrale (pz 7, 8, 9) in un soggetto più evidente a livello frontale con assottigliamento del corpo calloso (pz 7).

Altre caratteristiche

I soggetti non presentano particolari dimorfismi facciali, né malformazioni, né anomalie di conformazione e/o di dimensione dei genitali.

Tabella 3 Caratteristiche cliniche ed EEG (pazienti ARX)	Paziente VII c.1611 T>C p.537 Leu>Pro	Paziente VIII c.1604 T>A p.535 Leu>Gln	Paziente IX c.1604 T>A p.535 Leu>Gln
Età attuale	16 anni	2 anni	3 ½ anni
Sesso	M	M	M
Parametri auxologici neonatali	PN 50° %ile L 50-75° %ile CC 25° %ile	PN < 3% CC < 3%	CC 10%ile
Età esordio crisi	nascita	20 giorni	6 giorni
Crisi all'esordio	crisi toniche spasmi mioclonie massive	spasmi tonici mioclonie erratiche	crisi emicloniche crisi cloniche gen.
EEG all'esordio	suppression burst	suppression burst	suppression burst
EN all'esordio	relazione compromessa ipotonia	relazione compromessa ipotonia marcata	relazione compromessa ipotonia marcata
Sviluppo PM	no acquisizioni	no acquisizioni	no acquisizioni
Adattamento CC	/	microcefalia congenita	microcefalia evolutiva
Evoluzione epilessia	West atipica Lennox-Gastaut like	West atipica	West atipica
Farmacoresistenza	si	si	si
Crisi attuali	mioclonie massive crisi toniche crisi focali	spasmi crisi toniche	spasmi crisi focali
EEG all'ultima valutazione	PO e PPO asincrone tendenti alla diffusione	POL bilaterali subcontinue	POL bilaterali subcontinui
Esame neurologico attuale	RM profondo tetraparesi ipotonia	RM profondo tetraparesi ipotonica piramidalismo arti inf. disfagia	RM profondo tetraparesi spastica ipotonia assiale disfagia
Best performance	non controlla il capo	controllo del capo	non controlla il capo
Linguaggio	assente	assente	assente
Contatto visivo	assente	assente	assente
Anomalie genitali	no	no	no
Disautonomie	no	no	apnee
Distonie	si	no	no
RMN cerebrale	<u>1° anno:</u> normale <u>13 anni:</u> atrofia cerebrale (>F) corpo calloso assottigliato cisti aracnoidea	<u>6 mesi:</u> normale <u>22 mesi</u> atrofia cerebrale diffusa	<u>6 giorni:</u> normale <u>2 anni</u> atrofia cerebrale diffusa

Abbreviazioni: PN peso neonatale; CC circonferenza cranica; L lunghezza; PM psicomotorio; EN esame neurologico; RM ritardo mentale; PO complessi punta-onda; PPO complessi polipunta-onda; POL complessi punta-onda lenti, F frontale.

5. DISCUSSIONE

Le encefalopatie epilettiche costituiscono un gruppo eziologicamente composito di situazioni in cui il processo epilettico in sé è ritenuto contribuire al disturbo della funzione cerebrale (*Engel 2001, 2006*), rispetto al quale anche la patologia sottostante può svolgere un ruolo preminente (*Dravet 2009*).

Diverse sono le sindromi epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita - definite e riportate nella classificazione ILAE delle sindromi epilettiche (*Engel 2001, 2006*) - che configurano un quadro di encefalopatia epilettica. Accanto a queste, vi è però una quota di bambini in cui non è possibile formulare una diagnosi sindromica, non essendo chiaramente riconoscibili le caratteristiche cliniche ed EEG delle forme classificate (*Sarisjulis et al. 2000*).

Per quanto riguarda l'aspetto eziologico, estremamente eterogenee sono le cause identificabile alla base delle diverse encefalopatie epilettiche del primo anno di vita, comprendendo cause acquisite e genetiche, malformative e non malformative. D'altra parte, però, fino al 30% - 40% dei soggetti affetti rimane senza diagnosi eziologica, non essendo possibile identificare in questi casi una malattia od una causa specifica sottostante l'encefalopatia epilettica (*Primec et al. 2002; Roger et al. 2005; Sartori e Boniver 2008, dati non pubblicati*). Notevoli sforzi sono stati compiuti in questi ultimi anni nel tentativo di chiarire ed identificare nuove cause, in particolare genetiche, alla base delle encefalopatie epilettiche ad insorgenza nel primo anno di vita.

Nel presente lavoro è stato valutato quale poteva essere il ruolo di mutazioni dei geni *ARX* e *CDKL5* in tale ambito. I risultati ottenuti mediante la realizzazione di uno studio multicentrico, che ha coinvolto 80 soggetti (40 maschi e 40 femmine), dimostrano che entrambi questi geni costituiscono una causa significativa di encefalopatia epilettica ad insorgenza nel primo anno di vita, confermando ed integrando le precedenti segnalazioni. In particolare

sono state identificate mutazioni dei geni *ARX* e *CDKL5* complessivamente in 9 soggetti, ovvero in circa l'11% del campione reclutato, costituito da soggetti con un'encefalopatia epilettica ad insorgenza nel primo anno di vita ad eziologia sconosciuta, a prescindere da uno specifico inquadramento sindromico dal punto di vista epilettologico. Tale dato, di estremo interesse per le sue implicazioni nell'approccio diagnostico alle epilessie del primo anno di vita e per le speculazioni patogenetiche che può suggerire, merita però di essere discusso considerando separatamente le frequenze di mutazione relative ai due geni analizzati ed i fenotipi ad essi correlati.

A questo proposito è da sottolineare che le frequenze di mutazione riportate sono state calcolate rispetto al numero dei soggetti reclutati. Quindi, tenuto conto che - per indisponibilità di sufficiente DNA - l'analisi non è stata possibile in alcuni soggetti, i tassi di mutazione potrebbero essere leggermente sottostimati.

Mutazioni del gene *CDKL5* e fenotipi associati

Mutazioni del gene *CDKL5* sono state riscontrate in 6 soggetti, ovvero in circa l'8% del campione analizzato - composto in egual misura da maschi e femmine - con netta prevalenza tra i soggetti di sesso femminile, essendo stato identificato come mutato un unico soggetto maschio (con cariotipo 47, XXY). Se si considera quindi solo la popolazione femminile dello studio la frequenza di mutazioni incrementa in modo significativo divenendo pari al 12,5 % (5 mutazioni su 40 femminine reclutate). Tale dato è in linea con i pochi lavori simili della letteratura. Infatti, Archer nel 2006 riporta una percentuale di mutazione del *CDKL5* pari al 17% considerando un campione costituito da 42 femmine con ritardo mentale ed esordio di epilessia prima dei sei mesi, e pari al 10% considerando un diverso campione costituito da 10 femmine con spasmi infantili ad eziologia sconosciuta esorditi entro il primo

anno di vita (*Archer et al. 2006*). La percentuale complessiva di soggetti mutati nello stesso lavoro scende all'8% se si considera l'intero campione (22 maschi e 77 femmine), non essendoci mutazioni tra i maschi. Analogamente Bahi-Buisson riporta un tasso di mutazione del 8,1 % in un campione di 99 soggetti esclusivamente di sesso femminile con compromissione motoria e relazionale ed epilessia refrattaria senza spasmi infantili, e del 16,7% in una coorte indipendente costituita da 30 femmine con spasmi infantili (*Bahi-Buisson et al. 2008*). Rispetto a tali lavori, il nostro studio ha la prerogativa di essere riferito ad una popolazione mista ed ugualmente bilanciata tra maschi e femmine. Inoltre consente una valutazione globale del ruolo e dell'entità del coinvolgimento del gene *CDKL5* in una popolazione generale di soggetti con encefalopatia epilettica del primo anno di vita ad eziologia sconosciuta, a prescindere da un preciso inquadramento sindromico epilettologico. In base a tali presupposti, i risultati ottenuti suggeriscono in tale contesto clinico-epilettologico un ruolo consistente di *CDKL5* specie nei soggetti di sesso femminile, tra i quali si può stimare un tasso di mutazione appunto intorno al 12,5%. Parallelamente tali dati, pur confermando la possibilità di trovare mutazioni di *CDKL5* in soggetti fenotipicamente maschi (*Weaving et al., 2004; Elia et al. 2008*), dimostrano come ciò costituisca comunque un'evenienza estremamente rara.

Per quanto riguarda il quadro clinico correlato alle mutazioni di *CDKL5* identificate, l'accurata analisi della storia clinica, epilettologica e della documentazione elettroencefalografica ha consentito di approfondire aspetti fenotipici noti e di identificarne di nuovi ed originali, contribuendo alla caratterizzazione del profilo elettroclinico. In termini generali è possibile riconoscere anche nei nostri soggetti un andamento a tre stadi come descritto recentemente (*Bahi-Buisson et al. 2008a e 2008b*), anche se, rispetto a quanto descritto da Bahi-Buisson, emergono e meritano di essere discusse significative ed interessanti differenze quali la commistione fin da subito di

più tipi di crisi, l'elevata incidenza di crisi focali in tutte le fasi, la presenza precocemente di un'attività EEG inabituale, e la mancanza di un quadro ipsaritmico classico nella fase encefalopatia.

L'epilessia costituisce il sintomo di presentazione in tutti i nostri pazienti, e l'insorgenza delle crisi avviene sempre entro il quarto mese di vita. Nella metà dei casi inoltre è possibile far risalire le crisi al periodo neonatale, come in circa il 45% dei casi riportati attualmente in letteratura, suggerendo l'opportunità di considerare le mutazioni di *CDKL5* nella diagnosi differenziale delle convulsioni neonatali refrattarie (*Grosso et al. 2007*), specie in assenza di patologia metabolica, strutturale o ipossico-ischemica. Il tipo di crisi all'esordio è costituito nei soggetti studiati prevalentemente da manifestazioni motorie brusche generalizzate prevalentemente in estensione - descritte dai genitori come scosse, sussulti, scatti - in corrispondenza delle quali alla poligrafia è possibile riconoscere una morfologia a tipo spasmo e/o mioclonia mentre all'EEG non è possibile individuare un chiaro ed univoco correlato EEG, spesso costituito semplicemente da un'onda ampia lenta. Sempre in questa fase sono relativamente frequenti nei nostri pazienti crisi focali con componente tonica, ed in un terzo dei soggetti troviamo crisi tonico-cloniche apparentemente generalizzate. Questa molteplicità di tipi di crisi registrate fin dall'esordio - non descritta né valorizzata dalla Bahi-Buisson che riporta in tale fase esclusivamente crisi toniche e tonico cloniche generalizzate - costituisce un dato interessante ed un possibile elemento chiave per l'identificazione di potenziali candidati per l'analisi molecolare di *CDKL5*. D'altronde la presenza di tipi di crisi diverse dalle toniche e tonico-cloniche, quali crisi focali e spasmi/mioclonie è rintracciabile rispettivamente in circa un 30% ed un 10-15% dei pazienti descritti nei lavori pubblicati fino ad oggi. In particolare, come ben sottolineato da Grosso nella sua review del 2007 (*Grosso et al. 2007*), è possibile trovare fin dall'esordio elementi semeiologici suggestivi di crisi focali, talora con componente tonica, nei

pazienti descritti da Kalsheuer nel 2003 (“...*abnormal turning of the eyes...*”), da Evans nel 2005 (“...*facial grimacing... trembling...*”), da Mari nel 2005 (“...*sudden awakening... staring...*”), da Arcer nel 2006 (“...*subtle orofacial seizures, breath-holding, chokin episodes...*”), da Buoni nel 2006 (“...*abrupt awakening, fixed gaze, tremor...*”), da Van Esch nel 2006 (“...*staring eyes...*”), da Pintaudi 2008 (“...*fixed eye...*”), e da Elia 2008 (“...*fixed gaze...eye deviation...*”) (Kalsheuer et al. 2003; Evan et al. 2005; Mari et al. 2005; Archer et al. 2006; Buoni et al. 2006; Van Esch et al 2006; Pintaudi et al. 2008; Elia et al. 2008). Altrettanto, crisi a tipo spasmo e mioclonie sono riportate da Tao (Tao et al. 2004), Scala (Scala et al. 2005), Mari (Mari et al. 2005), Van Esch (Van Esche et al. 2006). Nella maggior parte dei nostri soggetti inoltre vi è fin dall’esordio una marcata commistione di più tipi di crisi - specie crisi focali, spasmi e mioclonie - nell’ambito di un unico evento clinico. E questo aspetto è estremamente significativo e peculiare, specie perché tende a mantenersi nel tempo. A fronte di un’epilessia spesso florida, in tale fase l’EEG mantiene una normale attività di fondo ed una buona organizzazione in sonno ed in veglia, nel quale però un’attenta analisi consente di identificare in circa 2/3 dei casi, in una quota superiore a quanto riportato in letteratura, la presenza di anomalie lente ed epilettiformi focali e multifocali. Al contrario, da un punto di vista clinico tutti i soggetti presentano già in questa fase un significato e globale ritardo dello sviluppo psichico e motorio associato a importante ipotonia assiale e compromissione della relazione. Ed è proprio la contrapposizione tra un’epilessia con crisi polimorfe ed una compromissione neurologica severa da un lato ed un’attività EEG globalmente preservata e presenza discreta di attività parossistica intercritica multifocale dall’altra, che si configura essere un elemento distintivo e suggestivo per l’identificazione precoce del coinvolgimento di *CDKL5* in neonati e lattanti.

Nei mesi successivi nessuno dei nostri pazienti presenta un significativo periodo libero da crisi (il cosiddetto “*honeymoon period*” descritto da Bahi-Buisson), persistendo crisi frequenti e scarsamente controllate dalla terapia. Gli EEG intercritici mostrano un progressivo deterioramento dell’attività elettrica, con rallentamento e/o aumento dei voltaggi dell’attività di fondo in veglia e/o sonno, una riduzione delle figure ipniche fisiologiche, ed un incremento dell’attività parossistica intercritica multifocale, con tendenza in alcuni casi alla sincronizzazione delle anomalie. In 2 pazienti in particolare (*pz 2 e pz 4*), è possibile riconoscere in tale fase la comparsa di un’attività theta in abituale di medio-ampio voltaggio, in questi casi, sulle regioni temporo-occipitali, già descritta in altri lavori, ma che come vedremo di seguito rappresenta a nostro parere un pattern EEG relativamente precoce, estremamente caratteristico, anche se non presente in tutti, e quindi un dato neurofisiologico utile nell’identificare soggetti potenzialmente affetti da mutazioni di *CDKL5*.

Con l’ingravescenza delle crisi epilettiche e/o dell’attività parossistica intercritica pressoché in tutti i nostri soggetti si assiste ad una regressione dello sviluppo che - con un certo grado di approssimazione - inizia in media all’età di 12 mesi (range 5 mesi - 20 mesi). L’occorrenza di tale deterioramento è quindi molto più consistente di quanto riportato in letteratura, anche se tale dato potrebbe essere semplicemente imputabile ad un follow up più stretto e diretto ed ad una diversa sensibilità nella definizione e quindi valutazione di stagnazione, arresto, regressione dello sviluppo. Contemporaneamente si configura da un punto di vista elettroclinico un quadro di encefalopatia epilettica. Diversamente da quanto riportato da Bahi-Buisson, persiste anche in tale fase un’estrema varietà di tipi di crisi (prevalentemente spasmi / spasmi tonici, crisi focali, crisi toniche, mioclonie / crisi miocloniche) che si ritrova anche se spesso non valorizzata in altre casistiche (*Evans et al. 2005; Archer et al. 2006; Buoni et al. 2006; Grosso et*

al. 2007, Pintaudi et al. 2008) e si dimostra quindi essere un elemento chiave aggiuntivo nell'identificazione di soggetti da avviare all'analisi molecolare di *CDKL5*, specie quando più tipi di crisi sono commisti all'interno di un unico evento clinico. Nessuno dei nostri pazienti, neppure quelli con spasmi, presenta in questa fase e nel successivo follow up, un pattern ipsaritmico classico secondo la definizione originale di Gibbs e Gibbs del 1952. Pur nella varietà e fluttuazione dell'attività elettrica registrata nei nostri soggetti, prevale un pattern elettrico molto peculiare, simile tra i diversi soggetti e precoce, costituito da attività theta, scarsamente o non reagente, di ampio o amplissimo voltaggio, incostantemente frammista ad onde lente, più evidente talora sulle regioni anteriori talora su quelle posteriori, frammista ad anomalie multifocali di ampio voltaggio (a tipo di punta e polipunta, onda aguzza, complessi punta e polipunta onda), più frequenti ed ampie in sonno, che aumentano in frequenza nel tempo, con la tendenza a divenire sincrone sui due emisferi specie in sonnolenza e/o sonno, fino a costituire burst di anomalie diffuse. Si tratta di un quadro EEG, riconoscibile anche in alcuni dei pazienti già riportati da autori italiani (*Buoni et al. 2006; Pintaudi et al. 2008*) che si differenzia dal pattern di altre epilessie ed encefalopatie epilettiche dell'infanzia e del bambino. Solo in fase avanzata dopo anni di encefalopatia - quando tende ad attenuarsi l'attività theta inabituale a favore di un'attività delta e le anomalie diventano francamente sincronizzate sui due emisferi - tale pattern può ricordare l'attività che la Bahi-Buisson, definisce come ipsaritmia modificata (*Bahi-Buisson et al. 2008a*).

Relativamente al follow up disponibile, i cinque soggetti più vecchi della nostra serie presentano ancora un estremo polimorfismo delle crisi, con frequenza pluriquotidiana o quotidiana. Prevalgono le crisi mioclonie e/o mioclonie, ma persistono crisi toniche, crisi focali, crisi tonico cloniche e spasmi / spasmi tonici. Nessuno dei nostri soggetti è libero da crisi né ha sviluppato un'epilessia ben controllata, diversamente da quanto succede in

circa la metà dei casi riportati complessivamente in letteratura, anche se tale dato può essere imputato al follow up ancora limitato nella nostra casistica. L'evoluzione del pattern EEG intercritico è testimone di un ulteriore rallentamento dell'attività inabituale ampia descritta in precedenza per incremento di componenti delta ampie ed amplissime e di una sempre più marcata tendenza delle anomalie multifocali ad essere sincrone ed a raggrupparsi in burst che si susseguono con un andamento cosiddetto pseudo periodico. Si verifica quindi anche in una parte dei nostri pazienti l'evoluzione verso quella che la Bahi-Buisson definisce “*multifocal and myoclonic epilepsy*” e che la Buoni chiama “*myoclonic encephalopathy*” (Buoni et al. 2006), volendo sottolineare entrambe come prevalga in questa fase della storia epilettica di questi pazienti l'aspetto mioclonico dell'epilessia, che la nostra casistica dimostra però essere presente fin dai primi mesi di vita. Dal punto di vista clinico neurologico, anche nei nostri pazienti si conferma una grave compromissione cognitiva, relazionale e motoria con ipotonia globale marcata ed incostantemente manifestazioni distoniche. Aspetti clinici che ricordano la Sindrome di Rett - stereotipie manuali, rallentamento della velocità di crescita della circonferenza, disturbi del respiro - compaiono invece solo in una parte dei soggetti e spesso tardivamente e quindi essi possono costituire aspetti prevalentemente a carattere supportivo nell'indirizzare la diagnosi (Artuso, Mencarelli, Polli, Sartori et al. 2009). L'analisi del fenotipo facciale ha invece consentito di individuare nella maggior parte dei soggetti alcuni aspetti ricorrenti e peculiari: occhi grandi ed infossati, ipertelorismo, narici anteverse, punta nasale bulbosa, labbro superiore sottile e labbro inferiore prominente, bocca larga, lingua protrusa e mento affilato.

I dati clinici, neurologici, epilettologici ed elettroencefalografici emersi dalla nostra casistica contribuiscono a delineare e caratterizzare lo spettro fenotipico correlato alle mutazioni del gene *CDKL5*. In questo modo,

analogamente ai più recenti lavori della letteratura, tali risultati confermano l'opportunità di considerare il *CDKL5* come il gene responsabile di un nuovo spettro sindromico, definito sia sul piano clinico che quello epilettologico, ed autonomo non solo dall'ISSX ma anche ovviamente dalla Sindrome di Rett. Essi suggeriscono quindi la possibilità di impiegare definitivamente l'espressione "*CDKL5-related disorders*" piuttosto che quella di "*Early seizures variant of Rett Syndrome*" riferendoci ai fenotipi causati da mutazioni di *CDKL5*. Del resto, se è vero che aspetti Rett-like possono comparire nei soggetti con mutazioni di *CDKL5*, abbiamo visto che questo succede incostantemente e spesso tardivamente senza costituire un aspetto né specifico né patognomonico. Inoltre, sebbene la maggior parte dei pazienti con mutazioni a carico di *CDKL5* presenta un quadro caratterizzato da epilessia severa ad esordio precoce, grave compromissione cognitiva e motoria ed eventualmente aspetti Rett-like, vi sono segnalazioni che fanno ipotizzare la presenza di un fenotipo più ampio con forme meno severe (*Psoni et al. 2009*), senza epilessia (*Weaving et al. 2004*) e assolutamente senza caratteristiche evocanti la Sindrome di Rett. In tale prospettiva potrebbe essere limitante, sia sul piano della pratica clinica che quello della ricerca, pensare al *CDKL5* semplicemente come al gene di una variante della Sindrome di Rett. La presenza di aspetti somatici facciali specifici nei soggetti con mutazioni di *CDKL5*, se confermata, deporrebbe ulteriormente a favore dell'esistenza di un'entità sindromica a sé stante.

Pur esulando dagli obiettivi immediati di tale studio la valutazione dell'esistenza di una correlazione genotipo-fenotipo -significativa solo quando si considerano numerosi soggetti affetti- alcune considerazioni a parte merita l'unico soggetto maschio (*Paziente 6*) riportato nella nostra casistica e oggetto di una pubblicazione sull'*American Journal of Medical Genetics* (*Sartori et al. 2009*). Mutazioni di *CDKL5* sono state riportate finora pressoché esclusivamente in soggetti di sesso femminile, similmente a quanto

ad esempio succede per *MECP2* che potrebbe per questo costituire un modello per interpretare tale fenomeno. Sulla base della mancata evidenza di un elevato tasso di abortività o di preponderanza di nati femmine nelle rare famiglie con più soggetti affetti (*Murphy et al. 1986*), la prevalenza di femmine tra i soggetti con mutazioni di *MECP2* è stata ipotizzata dipendere da una letalità nei feti maschi con mutazioni di *MECP2* così precoce da impedire il riconoscimento della stessa gravidanza (*Schanen 2001*). Inoltre, mutazioni sporadiche di *MECP2* tenderebbero a verificarsi nelle cellule germinali maschili, e quindi non sarebbero ereditate dai figli maschi. Questi due medesimi potrebbero essere alla base anche della netta prevalenza di mutazioni di *CDKL5* tra soggetti di sesso femminile. Ad oggi in particolare, solo sette maschi sono stati riportati con alterazioni coinvolgenti il *CDKL5* (*Huopaniemi et al. 2000; Weaving et al. 2004; Van Esch et al. 2007, Elia et al. 2008*). Solo in quattro di questi però la mutazione interessa esclusivamente questo gene ed è di per sé pienamente responsabile del loro fenotipo clinico (*Weaving et al. 2004; Elia et al. 2008*). Infatti, nei due fratelli con X-linked juvenile retinoschisis (XLRJ) riportati da Huopaniemi la delezione di 136-kb, che determina la perdita dei geni *XLRJ* e *PPEF-1*, causa semplicemente una piccola delezione C-terminale di *CDKL5* ragionevolmente priva di conseguenze: uno dei due fratelli non presenta problemi neurologici e l'altro presenta un'epilessia sintomatica di una sofferenza perinatale. Analogamente il paziente riportato da Van Esch presenta una larga delezione of Xp22, coinvolgente più di un gene, ed il suo fenotipo è solo in parte riconducibile all'alterazione di *CDKL5*. Il nostro caso è quindi attualmente uno dei rari casi di mutazione intragenica di *CDKL5* in un maschio, il primo associato ad un cariotipo 47,XXY. La mutazione identificata in tale soggetto interrompe la lunga regione C-terminale di *CDKL5* introducendo un codone di stop tra i codoni 526 e 780, regione cruciale per la localizzazione subcellulare di *CDKL5* nel nucleo (*Bertani et al., 2006*). In questo modo tale mutazione si

rende responsabile di una grave e precoce encefalopatia epilettica, che non ha niente a che fare con gli aspetti neurologici ed epilettologici che possono talora essere riscontrati nei soggetti con la Sindrome di Klinefelter (*Tatum et al., 1998; Ross et al. 2008*). D'altra parte, considerando quanto riportato in soggetti maschi con cariotipo 47,XXY o con mosaicismo somatico per mutazioni di *MECP2* (*Schwartzman et al. 2001; Vorsanova et al. 2001; Hammer et al. 2003; Chahrour and Zoghbi 2007*), ci saremmo aspettati un fenotipo sensibilmente meno severo rispetto a quello degli altri maschi *CDKL5* riportati (*Weaving et al. 2004; D'Elia 2008*), tenuto conto in particolare del possibile ruolo favorevole che avrebbe potuto avere la presenza di un cromosoma X soprannumerario con un pattern di X-inattivazione bilanciato come quello riscontrato in questo caso. L'apparente discordanza tra l'aspettativa di un possibile effetto migliorativo conferito dalla presenza di un cromosoma X wild type (*Hammer et al. 2003; Tao et al. 2004*) e la particolare severità del quadro clinico osservato potrebbe essere semplicemente spiegata dal particolare effetto negativo della mutazione riscontrata e/o da un pattern di X-inattivazione sfavorevole a livello del tessuto cerebrale (*Tan et al. 1993; Gale et al. 1994*).

Mutazioni del gene *ARX* e fenotipi associati

Mutazioni del gene *ARX* sono state riscontrate in 3 soggetti maschi (pari al 3,8% circa del campione reclutato), inaspettatamente tutti e tre affetti da Sindrome di Ohtahara. Due soggetti appartengono alla medesima famiglia ed uno costituisce un caso sporadico, dovuto a mutazione apparentemente *de novo*. Se consideriamo esclusivamente i soggetti di sesso maschile, tenuto conto che le femmine portatrici di mutazioni del gene *ARX* sono quasi sempre asintomatiche, la frequenza di mutazione incrementa significativamente passando al 7,5%. Tale dato è estremamente interessante anche perché in letteratura, a fronte di numerosi studi su popolazioni con ritardo mentale

familiare o non familiare, non esistono studi simili che abbiano cioè valutato la prevalenza di mutazioni del gene *ARX* in maschi e femmine con encefalopatia epilettica ad eziologia sconosciuta ad esordio nel primo anno di vita, indipendentemente da un preciso inquadramento sindromico epilettologico. L'unico studio simile è quello di Guerrini che ha però ricercato mutazioni del gene *ARX* in una popolazione di soli maschi (115 soggetti) con esclusivamente ISSX criptogenetica con o senza ipsaritmia, identificando 6 soggetti mutati, tra cui due coppie di fratelli, con una frequenza di mutazione pari al 5,2% (Guerrini *et al.* 2007). Nessuna mutazione invece è stata riscontrata in un altro studio che ha valutato la prevalenza di mutazioni del gene *ARX* in una piccola coorte di soggetti (33 soggetti: 30 femmine e 3 maschi) con epilessia ad esordio precoce e caratteristiche Rett-like (Evans *et al.* 2005). Quindi i nostri dati sottolineano il ruolo consistente del gene *ARX* nel contesto delle encefalopatie epilettiche dell'infanzia, anche al di là dello specifico ambito sindromico degli spasmi infantili, e confermano comunque come generalmente siano i maschi ad essere clinicamente affetti.

L'altro aspetto estremamente interessante è appunto costituito dal fenotipo elettroclinico riscontrato nei soggetti identificati come mutati. Tutti e tre presentano, infatti, una "Early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst" (EIEE) o Sindrome di Ohtahara ad esordio neonatale. Tutti presentano fin dalle prime registrazioni il tipico pattern EEG caratterizzato da burst di onde lente degradate ad alto voltaggio frammiste a punte, alternati a fasi di depressione dell'attività elettrica, e nel primo mese di vita tutti e tre questi soggetti presentano caratteristicamente spasmi/spasmi tonici, associati ad altri tipi di crisi, quali crisi focali (anche emicloniche), crisi toniche e mioclonie. L'evoluzione successiva è verso una Sindrome di West atipica e nel caso con il follow up più lungo verso una successiva Sindrome Lennox-Gastaut-like. Il quadro neurologico è caratterizzato in tutti da grave ritardo mentale, compromissione della relazione e tetra paresi.

Il riscontro di mutazioni di *ARX* in soggetti affetti da Sindrome di Ohtahara cosiddette criptogenetiche, oltre a dimostrare il coinvolgimento di questo gene in quadri di encefalopatia epilettica diversa dalla Sindrome di West o dagli Spasmi Infantili, ancora una volta conferma il marcato pleiotrofismo di tale gene, già ritenuto responsabile di numerosi fenotipi apparentemente non correlati, distinti classicamente in malformativi (Idranencefalia con genitali ambigui, Lissencefalia X-linked con genitali ambigui, Sindrome di Proud) e non malformativi (Sindrome degli Spasmi Infantili X-linked, epilessia mioclonica X-linked con spasticità e disabilità intellettiva, Sindrome di Partington, ritardo mentale non sindromico X-linked). La correlazione tra *ARX* e Sindrome di Ohtahara era già stata in precedenza segnalata da Kato (*Kato et al. 2007*) e - dopo la nostra segnalazione in forma di abstract al 58° meeting annuale dell'American Society of Human Genetics (*Bettella, Sartori et al. 2008*) - il dato è stato confermato anche da altri due recenti lavori (*Absoud et al. 2009; Fullston et al. 2009*), attestando *ARX* come il primo gene identificato responsabile delle rare forme criptogenetiche della Sindrome di Ohtahara.

Nella maggior parte dei casi, infatti, tale sindrome è imputabile a patologie strutturali del cervello, quali la Sindrome di Aicardi, la poroencefalia, l'emimegalencefalia, la lissencefalia (*Roger et al. 2005*). Nei nostri tre casi invece la RMN cerebrale non ha evidenziato alcuna alterazione strutturale tale da poter spiegare il loro grave quadro neurologico ed epilettologico. A parte, infatti, l'atrofia cerebrale comune a tutti i soggetti mutati, l'assottigliamento del corpo calloso e la comparsa di una cisti aracnoidea del polo temporale in uno dei soggetti non sembrano poter essere coinvolti nella patogenesi dell'encefalopatia epilettica. D'altra parte tali reperti morfologici, per le loro caratteristiche neuroradiologiche e per il fatto di essere non presenti all'esordio, non sembrano nemmeno riconducibili alle più inusuali alterazioni

strutturali descritte in associazione ad *ARX* (*Stromme et al. 2003; Guerrini et al. 2007; Kato et al. 2004*).

In considerazione quindi dell'assenza di lesioni o malformazioni cerebrali è ragionevole pensare che il quadro neurologico ed il peculiare quadro EEG di suppression burst, nei nostri come negli altri soggetti riportati, possa essere imputabile ad una disfunzione del sistema GABAergico: mutazioni del gene *ARX*, molto espresso negli interneuroni GABAergici, potrebbero causare un'aberrante distribuzione o un malfunzionamento di questi ed impedire di conseguenza la formazione di adeguati circuiti inibitori (*Kitamura et al. 2002*). Ciò potrebbe generare, anche in assenza di anomalie morfologiche di sviluppo corticale, lo sconvolgimento dell'attività elettrica cerebrale e quindi sia il pattern EEG di suppression burst che l'epilessia (*Kato et al. 2007*). In tale prospettiva - in assenza di malformazioni cerebrali- potrebbe essere estesa alla Sindrome di Ohtahara dovuta ad *ARX* la denominazione di "interneuronopatia" che Kato aveva inizialmente riservato alla Sindrome di West in soggetti con mutazioni del gene *ARX* senza malformazioni dello sviluppo corticale (*Kato et al 2006*).

In tal senso inoltre, non essendo state riscontrate nei nostri tre soggetti né malformazioni né ipoplasie genitali, il loro fenotipo dovrebbe essere annoverato tra quelli non-malformativi e considerato come il più grave tra questi, per età d'esordio, tipo di pattern EEG e severità dell'epilessia. D'altra parte però il limite tra questi fenotipi e le forme malformative, non è sempre così netto come dimostrato dalla infantile epileptic-dyskinetic encephalopathy descritta da Guerrini, in cui vi è la presenza di piccole cisti a livello dei gangli della base che potrebbero far pensare ad aspetti malformativi. Allo stesso modo la marcata microcefalia in due dei nostri soggetti, congenita in un caso, potrebbe costituire elemento "a ponte" tra i due gruppi di fenotipi, suggerendo comunque la presenza di un comune meccanismo patogenetico sottostante.

Ad oggi in letteratura è riportata un'unica segnalazione di Sindrome di Ohtahara familiare, relativa ad una famiglia con Sindrome di Leigh anche se è difficile stabilire in questi casi se è la malattia metabolica in sé o quanto piuttosto l'esteso danno cerebrale da essa prodotto a causare l'encefalopatia epilettica. In ogni caso, i nostri due casi familiari rappresentano quindi la seconda segnalazione di Sindrome di Ohtahara familiare. Le due madri portatrici sono neurologicamente asintomatiche, in contrasto con quello che può succedere nel caso di madri di soggetti con i fenotipi malformativi, che - se portatrici - possono mostrare disabilità intellettiva e/o epilessia, con o senza agenesia del corpo calloso. Familiari sono anche i casi riportati da Fullston e colleghi (*Fullston et al. 2009*).

La mutazione identificata da Kato nei soggetti con Sindrome di Ohtahara produce un'espansione del primo tratto polialaninico da 16 a 27 residui alaninici, più lunga di quella in genere trovata poter causare la Sindrome di West (espansione da 16 a 23 residui polialaninici). Tale dato aveva fatto ipotizzare che ci fosse una correlazione tra severità del quadro clinico ed entità dell'espansione del tratto polialaninico. In realtà però lunghezza dell'espansione e fenotipo clinico non sono sempre correlati se si considera ad esempio che il bambino riportato da Absoud (*Absoud et al. 2009*) con Sindrome di Ohtahara e precoce neuro degenerazione presenta ciononostante un'espansione da 16 a 23 residui alaninici. Benché quindi ci sia in genere un buon grado di correlazione tra fenotipo e genotipo nelle patologie *ARX* correlate (*Kato et al. 2004*), questa non è al momento così chiara nel caso specifico della Sindrome di Ohtahara. D'altra parte anche mutazioni puntiformi di *ARX*, e non solo espansioni dei tratti polialaninici, possono essere coinvolte nella patogenesi della Sindrome di Ohtahara, come dimostrato dal caso riportato da Fullston e colleghi con una mutazione troncante precoce e dai nostri casi, in cui sono state identificate due mutazione missense, entrambe nell'esone 5 del gene. Ad oggi, tutto ciò

sembra suggerire che nelle encefalopatie epilettiche correlate al gene *ARX* in assenza di malformazioni cerebrali la gravità clinica (Sindrome di Ohtahara versus Sindrome di West) ed elettroencefalografica (suppression burst versus ipsaritmia) e la precocità di insorgenza (neonato versus lattante) dipendano dalle conseguenze molecolari e cellulari di ogni singola e specifica mutazione.

6. CONCLUSIONE

Il nostro studio dimostra che mutazioni dei geni *CDKL5* ed *ARX* costituiscono un fattore eziologico significativo ed importante in soggetti con encefalopatia epilettica ad insorgenza nel primo anno di vita, compreso il periodo neonatale, lì dove in particolare la storia clinica, le indagini neuroradiologiche ed il cariotipo non evidenziano o suggeriscono altre possibili cause. In tale contesto clinico mutazioni di tali geni possono essere complessivamente ritrovate in oltre il 10% dei casi. I nostri dati inoltre contribuiscono a meglio caratterizzare ed espandere i fenotipi elettroclinici associati a mutazioni di *CDKL5* ed *ARX*. In questo modo forniscono ulteriori elementi utili per indirizzare precocemente la diagnosi, integrando di conseguenza le attuali indicazioni all'analisi molecolare di questi geni.

In particolare i nostri risultati consentono di raccomandare l'analisi mutazionale di *CDKL5* nelle femmine, neurologicamente compromesse fin dalla nascita per la presenza di ipotonia assiale e/o scarsa relazione, che presentino un'epilessia ad esordio precoce e comunque entro i primi mesi di vita, caratterizzata fin dall'inizio dalla presenza, spesso nel contesto di un unico evento, di più tipi di crisi epilettiche - spasmi, mioclonie, crisi focali, crisi toniche e tonico cloniche apparentemente generalizzate - in presenza di una iniziale buona organizzazione dell'attività EEG, con frequente riscontro di anomalie intercritiche multifocali epilettiformi e/o lente ed in assenza di alterazioni significative alla RMN cerebrale. Nel corso dei primi due anni di vita l'ingravescenza delle crisi epilettiche - sempre polimorfe anche se con relativa prevalenza di crisi toniche e spasmi - e la comparsa di un peculiare pattern EEG - caratterizzato da attività theta ampia bilaterale, più o meno diffusa, frammista a subcontinue anomalie multifocali con tendenza alla sincronizzazione - costituiscono un ulteriore elemento chiave che può decisamente indirizzare la diagnosi. La successiva incostante comparsa di

manifestazioni cliniche Rett-like e l'evoluzione in senso marcatamente mioclonico dell'encefalopatia epilettica, con la possibile comparsa di un pattern EEG costituito da burst di anomalie ad andamento pseudo periodico, possono costituire ulteriori, anche se tardivi, elementi di sospetto. Infine, i nostri risultati dimostrano che mutazioni di *CDKL5* in maschi, seppur possibili, sono estremamente rare e quindi suggeriscono che nella pratica clinica, al di fuori di studi specifici, l'analisi molecolare di *CDKL5* in soggetti maschi dovrebbe essere limitata esclusivamente ai casi con elementi di forte sospetto clinico. Ovviamente al di fuori del contesto delle encefalopatie epilettiche considerate in questo lavoro, le varianti della sindrome di Rett caratterizzate da insorgenza precoce di crisi epilettiche, ovvero in genere prima del verificarsi della regressione, rimangono al momento un'altra possibile indicazione all'analisi molecolare di *CDKL5*, lì dove sia risultato negativo lo screening mutazionale di *MECP2*.

Per quanto riguarda il gene *ARX*, i nostri risultati, confermando l'iniziale segnalazione di Kato, permettono di raccomandare l'analisi molecolare di questo gene nei soggetti, esclusivamente maschi, con Sindrome di Ohtahara, sia sporadica che familiare. Essi suggeriscono inoltre l'opportunità di considerare lo screening mutazionale per tale gene più in generale in tutti i neonati o lattanti maschi con pattern EEG di suppression burst e/o encefalopatia epilettica precoce altrimenti non spiegati. I nostri dati raccomandano inoltre estrema cautela nel formulare conclusioni circa la correlazione genotipo-fenotipo in questo specifico contesto fenotipico correlato ad *ARX*. L'indicazione all'analisi molecolare di *ARX* nei soggetti con sindrome di Ohtahara si va ovviamente ad aggiungere ad una lunga lista di fenotipi clinici correlati, in soggetti maschi, a mutazioni di tale gene quali l'idranencefalia e la lissencefalia X-linked con genitali ambigui, la Sindrome Proud (ritardo mentale, agenesia del corpo calloso e genitali ambigui), la

Sindrome degli Spasmi Infantili X-linked, l'encefalopatia epilettico-discinetica infantile, l'epilessia mioclonica X-linked con spasticità e disabilità intellettiva, la Sindrome di Partington (ritardo mentale X-linked, epilessia e distonia distale), ritardo mentale familiare X-linked non sindromico con o senza epilessia.

Sulla scorta delle nostre indicazioni e quelle della letteratura, l'identificazione di altri soggetti con mutazioni di *CDKL5* ed *ARX* potrà contribuire a perfezionare ulteriormente la descrizione dei relativi fenotipi. Parallelamente, la valutazione del ruolo di altri geni - quali ad esempio *SCN1A*, *FOXG1* e *STXBP1* - nell'ambito delle encefalopatie epilettiche del primo anno di vita potrà contribuire a ridurre ulteriormente il numero di soggetti che, nonostante estensive indagini, rimane privo di una diagnosi eziologica, con favorevole ricaduta in termini di comprensione dei meccanismi sottostanti, gestione clinica e di counseling genetico.

BIBLIOGRAFIA

Absoud M, Parr JR, Halliday D, Pretorius P, Zaiwalla Z, Jayawant S. A novel ARX phenotype: rapid neurodegeneration with Ohtahara syndrome and a dyskinetic movement disorder. *Dev Med Child Neurol*. 2009 Sep 11. [Epub ahead of print]

Archer HL, Evans J, Edwards S, Colley J, Newbury-Ecob R, O'Callaghan F, Huyton M, O'Regan M, Tolmie J, Sampson J, Clarke A, Osborne J. CDKL5 mutations cause infantile spasms, early onset seizures, and severe mental retardation in female patients. *J Med Genet*. 2006 Sep;43(9):729-34. Epub 2006 Apr 12.

Artuso R, Mencarelli MA, Polli R, Sartori S, Ariani F, Pollazzon M, Marozza A, Cilio MR, Specchio N, Vigevano F, Vecchi M, Boniver C, Bernardina BD, Parmeggiani A, Buoni S, Hayek G, Mari F, Renieri A, Murgia A. Early-onset seizure variant of Rett syndrome: Definition of the clinical diagnostic criteria. *Brain Dev*. 2009 Apr 9. [Epub ahead of print]

Bahi-Buisson N, Kaminska A, Boddaert N, Rio M, Afenjar A, Gérard M, Giuliano F, Motte J, Héron D, Morel MA, Plouin P, Richelme C, des Portes V, Dulac O, Philippe C, Chiron C, Nabbout R, Bienvenu T. The three stages of epilepsy in patients with CDKL5 mutations. *Epilepsia*. 2008a Jun;49(6):1027-37. Epub 2008 Feb 7.

Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rosas-Vargas H, Milh M, Boddaert N, Girard B, Cances C, Ville D, Afenjar A, Rio M, Héron D, N'guyen Morel MA, Arzimanoglou A, Philippe C, Jonveaux P, Chelly J, Bienvenu T. Key clinical features to identify girls with CDKL5 mutations. *Brain*. 2008 Oct;131(Pt 10):2647-61. Epub 2008 Sep 12.

Bettella E, Sartori S, Giordano L, Darra F, Polli R, Russo S, Dalla Bernardina B, Murgia A. ARX gene and Otahara syndrome: beyond polyalanine tract expansions. The 58th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics. Philadelphia 11-15.11.2008. Volume atti, p. 303.

Bienvenu T, Poirier K, Friocourt G, Bahi N, Beaumont D, Fauchereau F, Ben Jeema L, Zemni R, Vinet MC, Francis F, Couvert P, Gomot M, Moraine C, van Bokhoven H, Kalscheuer V, Frints S, Gecz J, Ohzaki K, Chaabouni H, Fryns JP, Desportes V, Beldjord C, Chelly J. ARX, a novel Prd-class homeobox gene highly expressed in the telencephalon, is mutated in X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet.* 2002 Apr 15;11(8):981-91.

Buoni S, Zannolli R, Colamaria V, Macucci F, di Bartolo RM, Corbini L, Orsi A, Zappella M, Hayek J. Myoclonic encephalopathy in the CDKL5 gene mutation. *Clin Neurophysiol.* 2006 Jan;117(1):223-7. Epub 2005 Dec 2.

Caraballo RH, Fontana E, Darra F, Cassar L, Negrini F, Fiorini E, Arroyo H, Ferraro S, Fejerman N, Dalla Bernardina B. Migrating focal seizures in infancy: analysis of the electroclinical patterns in 17 patients. *J Child Neurol.* 2008 May;23(5):497-506. Epub 2008 Jan 29

Chahrour M, Zoghbi HY. The story of Rett syndrome: From clinic to neurobiology. *Neuron.* 2007;56:422–437.

Colombo E, Galli R, Cossu G, Gecz J, Broccoli V. Mouse orthologue of ARX, a gene mutated in several X-linked forms of mental retardation and epilepsy, is a marker of adult neural stem cells and forebrain GABAergic neurons. *Dev Dyn.* 2004;231:631-639.

Coppola G, Plouin P, Chiron C, Robain O, Dulac O. Migrating partial seizures in infancy: a malignant disorder with developmental arrest. *Epilepsia*. 1995; 36:1017-1024.

Dalla Bernardina B, Fontana E, Sgrò V, Colamaria V, Elia M. Myoclonic epilepsy ('myoclonus status') in non-progressive encephalopathies. In: Roger J, Bureau M, Dravet C, Dreifuss FE, Perret A, Wolf P (eds). *Epileptic syndrome in infancy, childhood, and adolescence* (2nd edn), pp89-96. John Libbery 1992.

Dravet C. Encefalopatie epilettiche dell'infanzia. XXXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Neurologia Pediatrica. L'Aquila 29-31 ottobre 2009.

Dulac O. Epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2001;42 Suppl 3:23-6.

Engel J Jr. ILAE classification of epilepsy syndromes. *Epilepsy Res*. 2006 Aug;70 Suppl 1:S5-10. Epub 2006 Jul 5.

Engel J Jr; International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001 Jun;42(6):796-803. No abstract available.

Evans JC, Archer HL, Colley JP, Ravn K, Nielsen JB, Kerr A, Williams E, Christodoulou J, Gécz J, Jardine PE, Wright MJ, Pilz DT, Lazarou L, Cooper DN, Sampson JR, Butler R, Whatley SD, Clarke AJ. Early onset seizures and Rett-like features associated with mutations in CDKL5. *Eur J Hum Genet*. 2005 Oct;13(10):1113-20.

Fullston T, Brueton L, Willis T, Philip S, MacPherson L, Finnis M, Gecz J, Morton J. Ohtahara syndrome in a family with an ARX protein truncation mutation (c.81C>G/p.Y27X). *Eur J Hum Genet.* 2010 Feb;18(2):157-62. Epub 2009 Sep 9.

Gale RE, Wheadon H, Boulos P, Linch DC. Tissue specificity of X chromosome inactivation pattern. *Blood.* 1994;83:2899–2905.

Gastaut H, Roger RJ, Soulayrol R, Pinsard N. L'encéphalopathie myoclonique infantile avec hypsarythmie (syndrome de West). 1964. Paris. Masson.

Gécz J, Cloosterman D, Partington M. ARX: a gene for all seasons. *Curr Opin Genet Dev.* 2006 Jun;16(3):308-16. Epub 2006 May 2.

Gibbs FA, Gibbs EL. Atlas of electroencephalography, vol. 2, Epilepsy. 1952. Reading: Addison-Wesley.

Giordano L, Sartori S, Russo S, Accorsi P, Galli J, Tiberti A, Bettella E, Marchi M, Vignoli A, Darra F, Murgia A, Dalla Bernardina B. Familial Ohtahara Syndrome due to a Novel ARX Gene Mutation. *American Journal of Medical Genetics. Part A.* [under revision]

Grønskov K, Hjalgrim H, Nielsen IM, Brøndum-Nielsen K. Screening of the ARX gene in 682 retarded males. *Eur J Hum Genet.* 2004 Sep;12(9):701-5.

Grosso S, Brogna A, Bazzotti S, Renieri A, Morgese G, Balestri P. Seizures and electroencephalographic findings in CDKL5 mutations: case report and review. *Brain Dev.* 2007 May;29(4):239-42. Epub 2006 Oct 16.

Guerrini R, Moro F, Kato M, Barkovich AJ, Shiihara T, McShane MA, Hurst J, Loi M, Tohyama J, Norci V, Hayasaka K, Kang UJ, Das S, Dobyns WB. Expansion of the first PolyA tract of ARX causes infantile spasms and status dystonicus. *Neurology*. 2007 Jul 31;69(5):427-33.

Hammer S, Dorrani N, Hartiala J, Stein S, Schanen NC. Rett syndrome in a 47,XXX patient with a de novo MECP2 mutation. *Am J Med Genet Part A*. 2003;122A:223–226.

Hartmann H, Uyanik G, Gross C, Hehr U, Lucke T, Arslan-Kirchner M, Antosch B, Das AM, Winkler J. Agenesis of the corpus callosum, abnormal genitalia and intractable epilepsy due to a novel familial mutation in the *Aristaless*-related homeobox gene. *Neuropediatrics*. 2004; 35: 157-160.

Hrachovy RA, Frost JD, Kellaway P. Hypsarrhythmia: variation on the theme. *Epilepsia*. 1984; 25: 317-325.

Jeavons PM, Bower BD. Infantile spasms: a review of the literature a study of 112 cases. 1964. London: Heinemann Medical.

Kalscheuer VM, Tao J, Donnelly A, Hollway G, Schwinger E, Kübart S, Menzel C, Hoeltzenbein M, Tommerup N, Eyre H, Harbord M, Haan E, Sutherland GR, Ropers HH, Gécz J. Disruption of the serine/threonine kinase 9 gene causes severe X-linked infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet*. 2003 Jun;72(6):1401-11. Epub 2003 May 7.

Kato M, Das S, Petras K, Kitamura K, Morohashi K, Abuelo DN, Barr M, Bonneau D, Brady AF, Carpenter NJ, Cipero KL, Frisone F, Fukuda T, Guerrini R, Iida E, Itoh M, Lewanda AF, Nanba Y, Oka A, Proud VK,

Saugier-Veber P, Schelley SL, Selicorni A, Shaner R, Silengo M, Stewart F, Sugiyama N, Toyama J, Toutain A, Vargas AL, Yanazawa M, Zackai EH, Dobyns WB. Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype–phenotype correlation. *Hum Mutat.* 2004; 23: 147-159.

Kato M, Das S, Petras K, Kitamura K, Morohashi K, Abuelo DN, Barr M, Bonneau D, Brady AF, Carpenter NJ, Ciperio KL, Frisone F, Fukuda T, Guerrini R, Iida E, Itoh M, Lewanda AF, Nanba Y, Oka A, Proud VK, Saugier-Veber P, Schelley SL, Selicorni A, Shaner R, Silengo M, Stewart F, Sugiyama N, Toyama J, Toutain A, Vargas AL, Yanazawa M, Zackai EH, Dobyns WB. Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat.* 2004 Feb;23(2):147-59.

Kato M, Saitoh S, Kamei A, Shiraishi H, Ueda Y, Akasaka M, Tohyama J, Akasaka N, Hayasaka K. A longer polyalanine expansion mutation in the ARX gene causes early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern (Ohtahara syndrome). *Am J Hum Genet.* 2007 Aug;81(2):361-6. Epub 2007 Jun 11.

Kato M. A new paradigm for West syndrome based on molecular and cell biology. *Epilepsy Res.* 2006 Aug;70 Suppl 1:S87-95. Epub 2006 Jun 23.

Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N, et al. Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nat Genet.* 2002;32:359-369.

Mari F, Azimonti S, Bertani I, Bolognese F, Colombo E, Caselli R, Scala E, Longo I, Grosso S, Pescucci C, Ariani F, Hayek G, Balestri P, Bergo A, Badaracco G, Zappella M, Broccoli V, Renieri A, Kilstrup-Nielsen C, Landsberger N. CDKL5 belongs to the same molecular pathway of MeCP2 and it is responsible for the early-onset seizure variant of Rett syndrome. *Hum Mol Genet.* 2005 Jul 15;14(14):1935-46. Epub 2005 May 25.

Miura H, Yanazawa M, Kato K, Kitamura K. Expression of a novel aristaless related homeobox gene 'Arx' in the vertebrate telencephalon, diencephalon and floor plate. *Mech Dev.* 1997;65:99-109.

Miyake S, Yamashita S, Yamada M, Iwamoto H. Therapeutic effect of ACTH and gamma-globulin in 8 case with the early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-burt (EEIE). *Shonika Rinsho (Tokyo).* 1987; 40:1681-1688.

Montini E, Andolfi G, Caruso A, Buchner G, Walpole SM, Mariani M, Consalez G, Trump D, Ballabio A, Franco B. Identification and characterization of a novel serine-threonine kinase gene from the Xp22 region. *Genomics.* 1998 Aug 1;51(3):427-33.

MurphyM,Naidu S, MoserHW. Rett syndrome—observational study of 33 families. *Am J Med Genet.* 1986; Suppl 1:S73–S76.

Ohira R, Zhang YH, Guo W, et al. Human ARX gene: genomic characterization and expression. *Mol Genet Metab.* 2002;77:179-188.

Panayiotopoulos CP. *A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment.* 1st Ed. Bladon Medical Publishing 2002.

Partington MW, Mulley JC, Sutherland GR, Hockey A, Thode A, Turner G. X linked mental retardation with dystonic movements of the hands. *Am J Med Genet.* 1988; 30: 251–262.

Pintaudi M, Baglietto MG, Gaggero R, Parodi E, Pessagno A, Marchi M, Russo S, Veneselli E. Clinical and electroencephalographic features in patients with CDKL5 mutations: two new Italian cases and review of the literature. *Epilepsy Behav.* 2008 Feb;12(2):326-31. Epub 2007 Dec 11.

Primec ZR, Kopac S, Neubauer D. Epidemiologic features of infantile spasms in Slovenia. *Epilepsia.* 2002 Feb;43(2):183-7.

Proud VK, Levine C, Carpenter NJ. New X-linked syndrome with seizures, acquired micrencephaly, and agenesis of the corpus callosum. *Am J Med Genet.* 1992; 43: 458-466.

Psoni S, Willems PJ, Kanavakis E, Mavrou A, Frissyra H, Traeger-Synodinos J, Sofokleous C, Makrythanassis P, Kitsiou-Tzeli S. A novel p.Arg970X mutation in the last exon of the CDKL5 gene resulting in late-onset seizure disorder. *Eur J Paediatr Neurol.* 2009 May 8. [Epub ahead of print]

Psoni S, Willems PJ, Kanavakis E, Mavrou A, Frissyra H, Traeger-Synodinos J, Sofokleous C, Makrythanassis P, Kitsiou-Tzeli S. A novel p.Arg970X mutation in the last exon of the CDKL5 gene resulting in late-onset seizure disorder. *Eur J Paediatr Neurol.* 2009 May 8. [Epub ahead of print]

Roger J, Bureau M, Dravet C, Genton P, Tassinari CA, Wolf P. *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence.* 4th Ed. (eds.) John Libbey Eurotext 2005.

Ross JL, Roeltgen DP, Stefanatos G, Benecke R, Zeger MP, Kushner H, Ramos P, Elder FF, Zinn AR. Cognitive and motor development during childhood in boys with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2008;146A:708–719.

Rusconi L, Salvatoni L, Giudici L, Bertani I, Kilstrup-Nielsen C, Broccoli V, Landsberger N. CDKL5 expression is modulated during neuronal development and its subcellular distribution is tightly regulated by the C-terminal tail. *J Biol Chem*. 2008 Oct 31;283(44):30101-11. Epub 2008 Aug 13.

Sarisjulis N, Gamboni B, Plouin P, Kaminska A, Dulac O. Diagnosing idiopathic/cryptogenic epilepsy syndromes in infancy. *Arch Dis Child*. 2000 Mar;82(3):226-30.

Sartori S, Di Rosa G, Polli R, Bettella E, Tricomi G, Tortorella G, Murgia A. A novel CDKL5 mutation in a 47,XXY boy with the early-onset seizure variant of Rett syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2009; 149A:232-236. 09 Feb;149A(2):232-6.

Scala E, Ariani F, Mari F, Caselli R, Pescucci C, Longo I, Meloni I, Giachino D, Bruttini M, Hayek G, Zappella M, Renieri A. CDKL5/STK9 is mutated in Rett syndrome variant with infantile spasms. *J Med Genet*. 2005 Feb;42(2):103-7.

Schanen C. Rethinking the fate of males with mutations in the gene that causes Rett syndrome. *Brain Dev*. 2001;23:S144–S146.

Scheffer IE, Wallace RH, Phillips FL, Hewson P, Reardon K, Parasivam G, Stromme P, Berkovic SF, Gecz J, Mulley JC. X-linked myoclonic epilepsy

with spasticity and intellectual disability: mutation in the homeobox gene ARX. *Neurology*. 2002 Aug 13;59(3):348-56.

Schwartzman JS, Bernardino A, Nishimura A, Gomes RR, Zatz M. Rett syndrome in a boy with a 47,XXY karyotype confirmed by a rare mutation in the MECP2 gene. *Neuropediatrics*. 2001;32:162–164.

Strømme P, Bakke SJ, Dahl A, Gécz J. Brain cysts associated with mutation in the Aristaless related homeobox gene, ARX. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003; 74: 536–538.

Strømme P, Mangelsdorf ME, Scheffer IE, Gécz J. Infantile spasms, dystonia, and other X-linked phenotypes caused by mutations in Aristaless related homeobox gene, ARX. *Brain Dev*. 2002b Aug;24(5):266-8.

Strømme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, Lower KM, Lewis SM, Bruyere H, Lütcherath V, Gedeon AK, Wallace RH, Scheffer IE, Turner G, Partington M, Frints SG, Fryns JP, Sutherland GR, Mulley JC, Gécz J. Mutations in the human ortholog of Aristaless cause X-linked mental retardation and epilepsy. *Nat Genet*. 2002a Apr;30(4):441-5. Epub 2002 Mar 11.

Strømme P, Sundet K, Mork C, Cassiman JJ, Fryns J-P, Claes S. X linked mental retardation and infantile spasms in a family: new clinical data and linkage to Xp11.4–Xp22.11. *J Med Genet*. 1999; 36: 374–378.

Suri M. The phenotypic spectrum of ARX mutations. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 2005; 47: 133–137 133

Tan SS, Williams EA, Tam PP. X-chromosome inactivation occurs at different times in different tissues of the post-implantation mouse embryo. *Nat Genet.* 1993; 3:170–174.

Tao J, Van Esch H, Hagedorn-Greiwe M, Hoffmann K, Moser B, Raynaud M, Sperner J, Fryns JP, Schwinger E, Gécz J, Ropers HH, Kalscheuer VM. Mutations in the X-linked cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5/STK9) gene are associated with severe neurodevelopmental retardation. *Am J Hum Genet.* 2004 Dec;75(6):1149-54.

Tatum WO IV, Passaro EA, Elia M, Guerrini R, Gieron M, Genton P. Seizures in Klinefelter's syndrome. *Pediatr Neurol.* 1998;19:275–278.

Uyanik G, Aigner L, Martin P, Gross C, Neumann D, Marschner-Schafer H, Hehr U, Winkler J. ARX mutations in X-linked lissencephaly with abnormal genitalia. *Neurology.* 2003; 61: 232-235.

Van Esch H, Jansen A, Bauters M, Froyen G, Fryns JP. Encephalopathy and bilateral cataract in a boy with an interstitial deletion of Xp22 comprising the CDKL5 and NHS genes. *Am J Med Genet Part A.* 2007;143A:364–369.

Van Esch H, Poirier K, de Zegher F, Holvoet M, Bienvenu T, Chelly J, Devriendt K, Fryns JP. ARX mutation in a boy with transsphenoidal encephalocele and hypopituitarism. *Clin Genet.* 2004; 65: 503–505.

Vorsanova SG, Yurov YB, Ulas VY, Demidova IA, Sharonin VO, Kolotii AD, Gorbachevskaja NL, Beresheva AK, Soloviev IV. Cytogenetic and molecular-cytogenetic studies of Rett syndrome (RTT): A retrospective

analysis of a Russian cohort of RTT patients (the investigation of 57 girls and three boys). *Brain Dev.* 2001;23:S196–S201.

Weaving LS, Christodoulou J, Williamson SL, Friend KL, McKenzie OL, Archer H, Evans J, Clarke A, Pelka GJ, Tam PP, Watson C, Lahooti H, Ellaway CJ, Bennetts B, Leonard H, Gécz J. Mutations of CDKL5 cause a severe neurodevelopmental disorder with infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2004 Dec;75(6):1079-93. Epub 2004 Oct 18.

APPENDICE

ICONOGRAFIA: *Paziente 1*

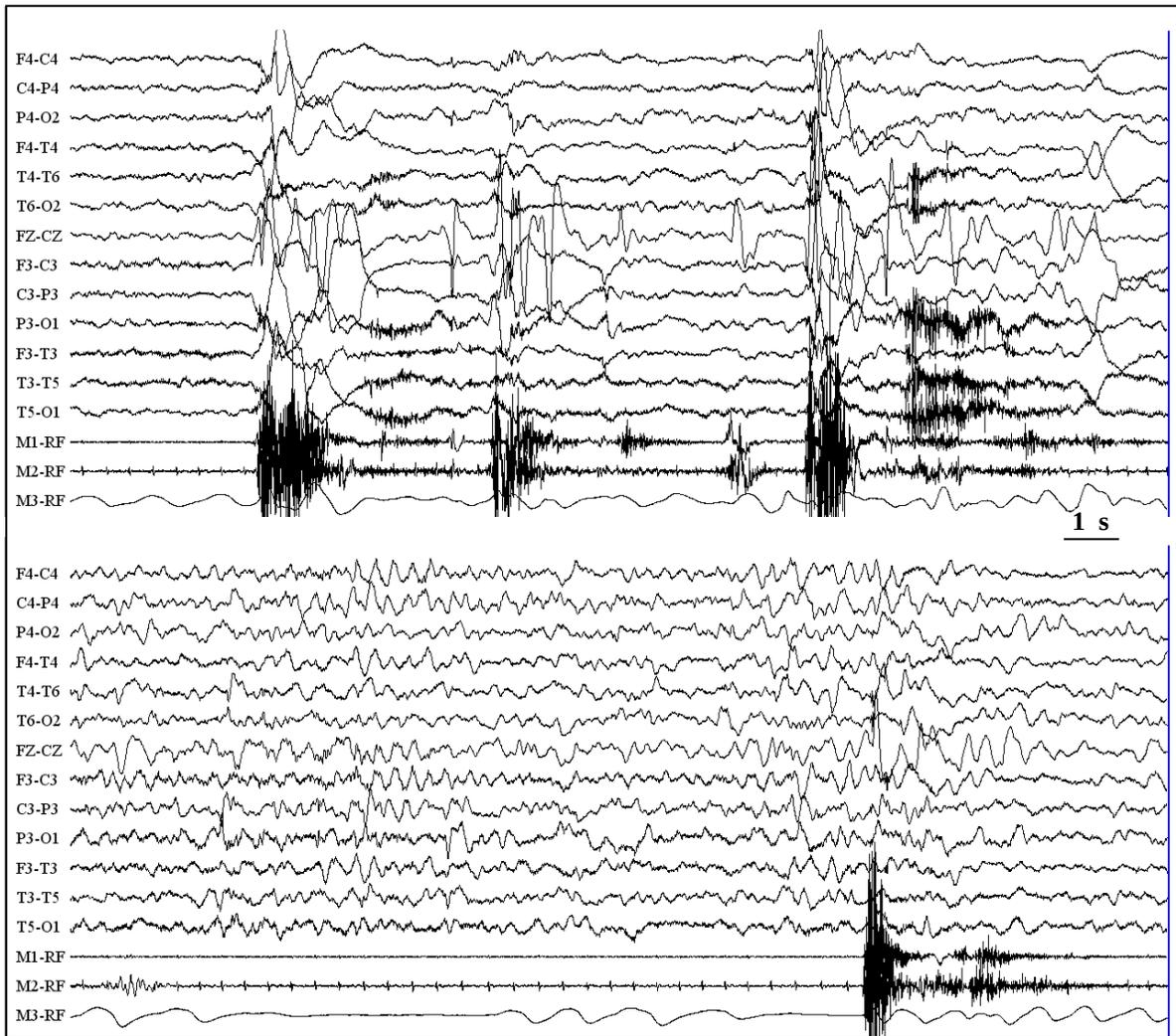


Figura 1.1. EEG in sonnolenza e sonno a 2 mesi e mezzo (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): brusche manifestazioni motorie a tipo spasmo, qui sia in serie in sonnolenza che isolate in sonno. Non è riconoscibile alcun chiaro correlato EEG, mentre la poligrafia ricorda l'aspetto fusiforme dello spasmo. (per gentile concessione dr.ssa Darra, NPI Verona)

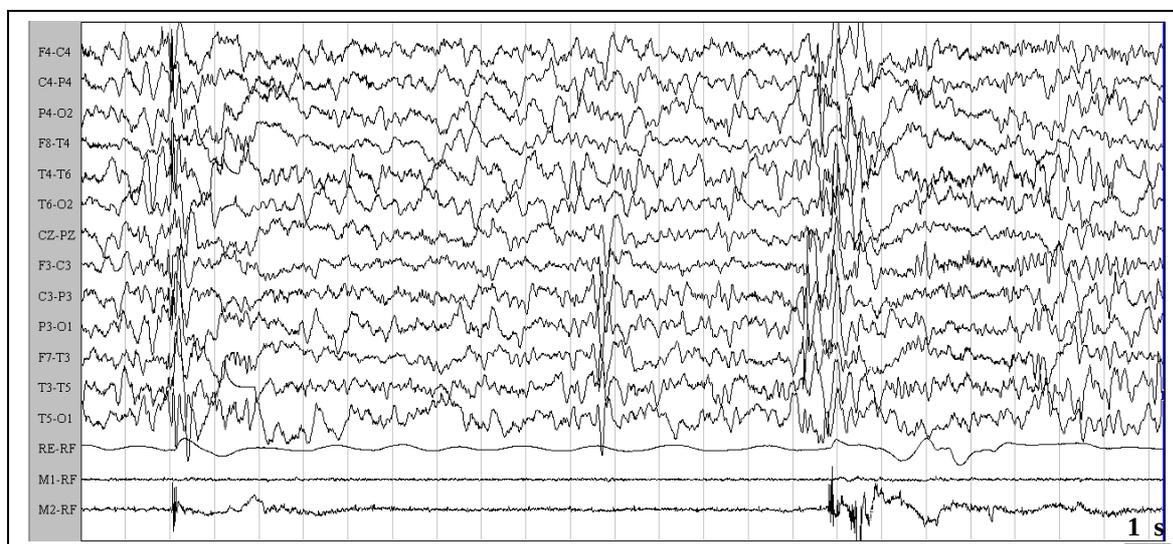
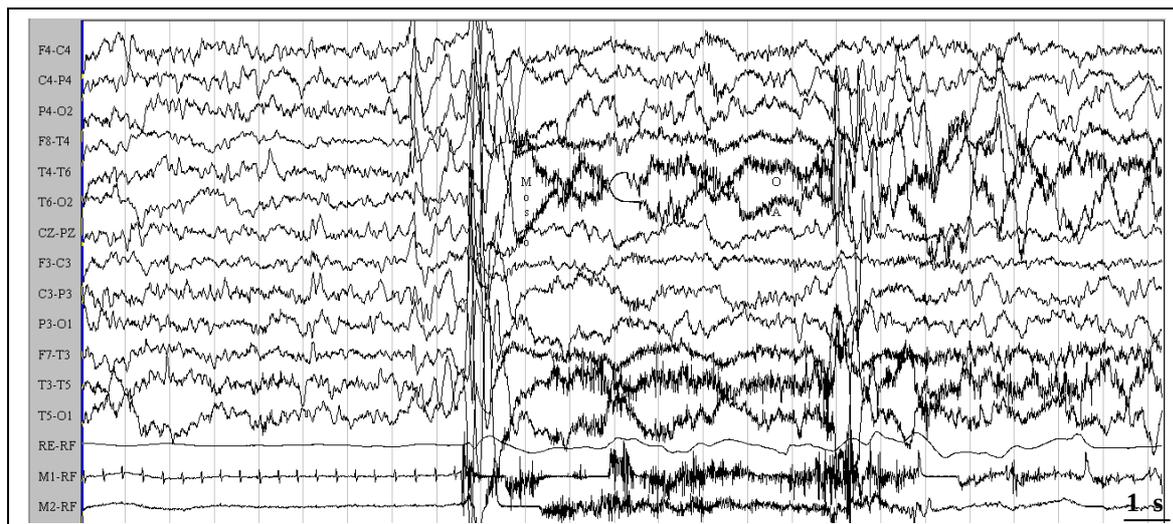


Figura 1.2. EEG in sonnolenza e sonno all'età di 15 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): la prima pagina è relativa ad uno stato di sonnolenza durante il quale improvvisamente la bambina apre gli occhi, presenta una brusca estensione del tronco e una flessione dei quattro arti a tipo spasmo. Da un punto di vista elettrico si apprezzano delle anomalie centro-parietali che precedono la manifestazione motoria, mentre alla poligrafia l'aspetto è più suggestivo di una mioclonia. La seconda pagina è relativa ad una successiva fase di sonno in cui la bambina presenta una fugace mioclonia al cingolo superiore, più evidente a sinistra. Da un punto di vista elettrico l'aspetto poligrafico relativo al deltoide sinistro è suggestivo di mioclonia cui corrisponde sull'EEG un complesso punta-onda aguzza, bilaterale diffuso di amplissimo voltaggio. Una manifestazione simile segue di 15 secondi.

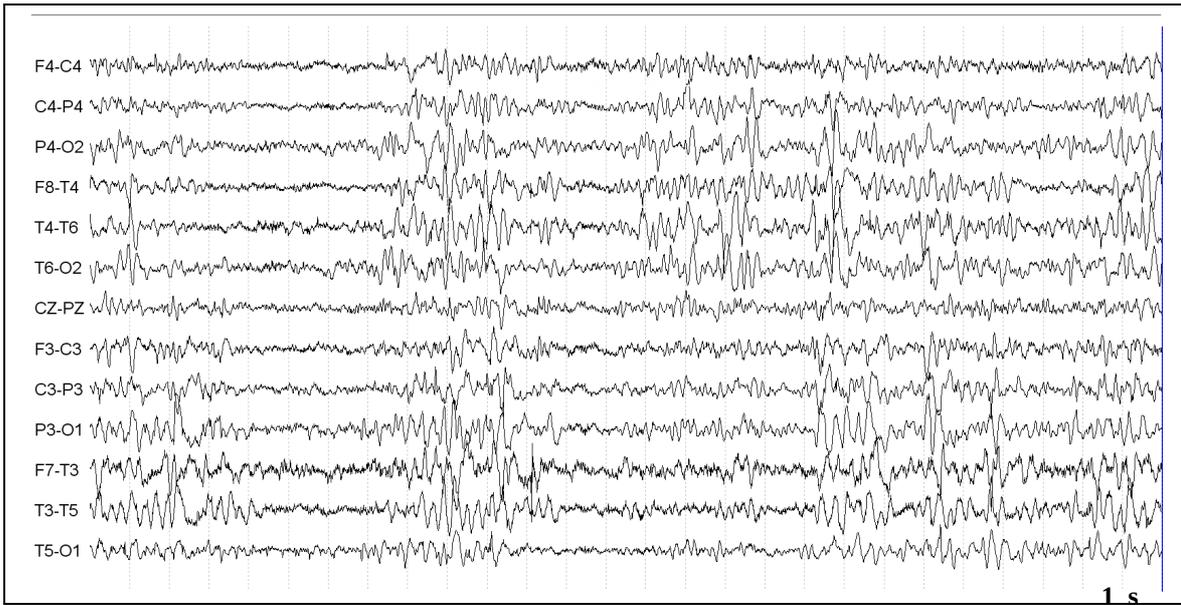


Figura 1.3. EEG in sonnolenza all'età di 14 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi testo.

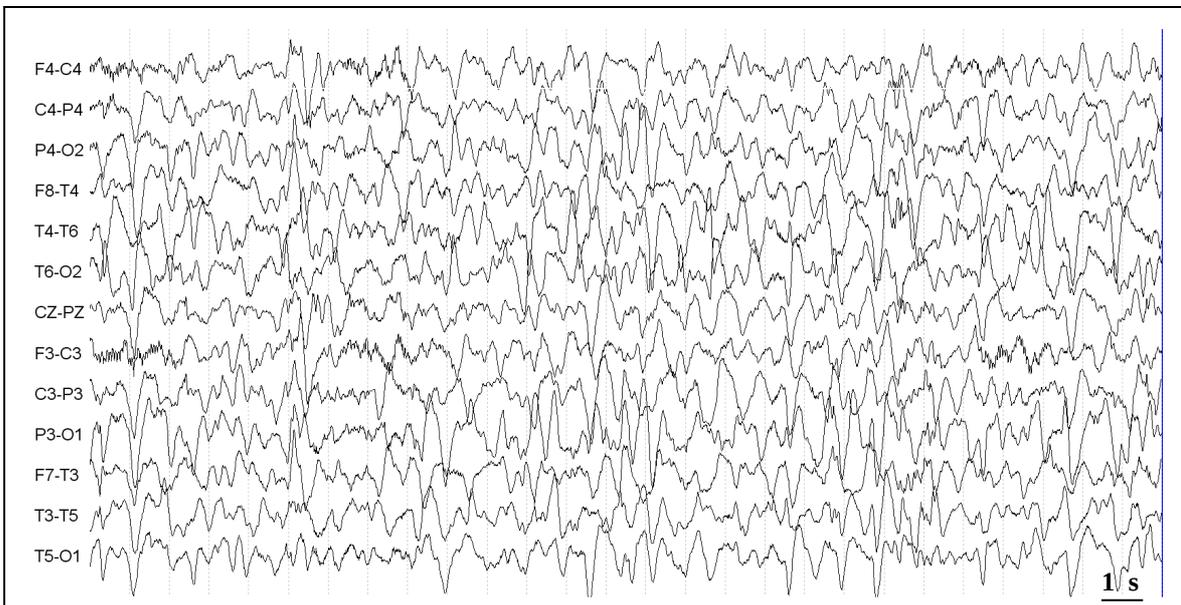


Figura 1.4. EEG in sonno all'età di 14 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi testo.

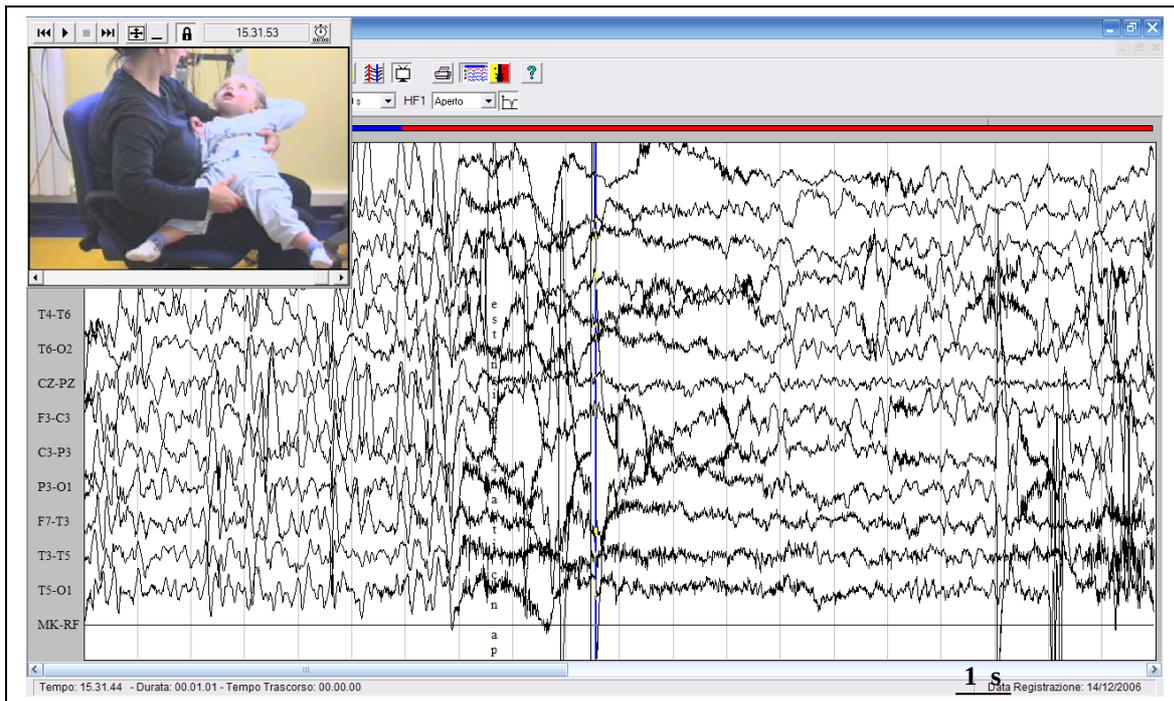


Figura 1.5. Video-EEG in veglia all'età 2 anni (crisi) (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): crisi tonica caratterizzata dal punto di vista elettrico da improvvisa comparsa di attività rapida di basso voltaggio diffusa, frammista ad attività artefattuale (si noti la postura assunta dalla bambina con ipertono ai quattro arti, prevalentemente in estensione).

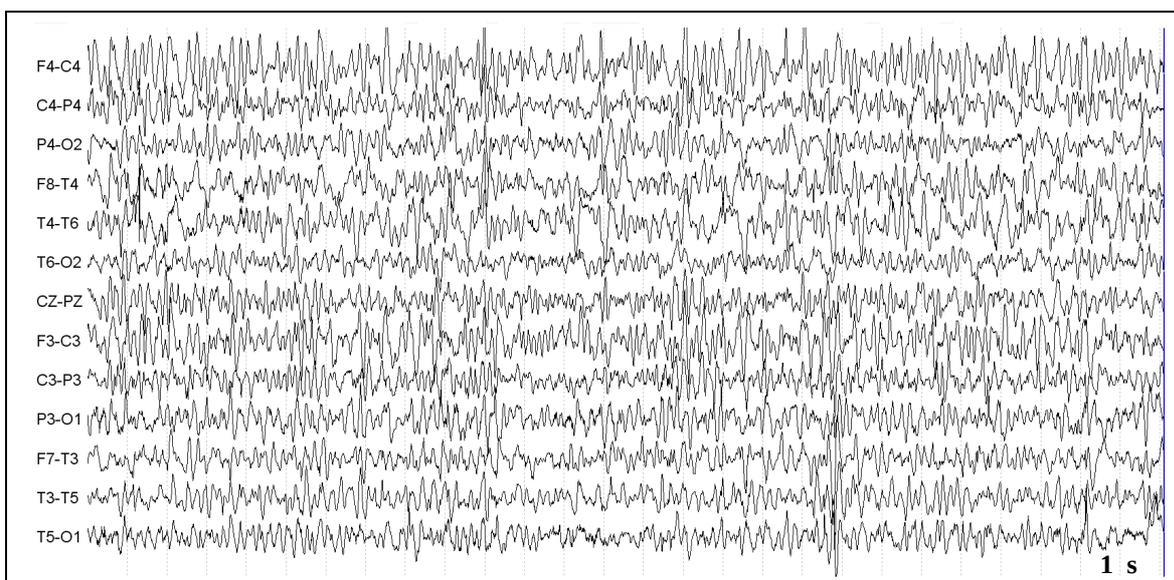


Figura 1.6. EEG in veglia all'età di 2 anni (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): si noti la presenza di un'attività theta ampia e diffusa, più continua e di maggior voltaggio a livello delle regioni anteriori, frammista a rare punte multifocali.

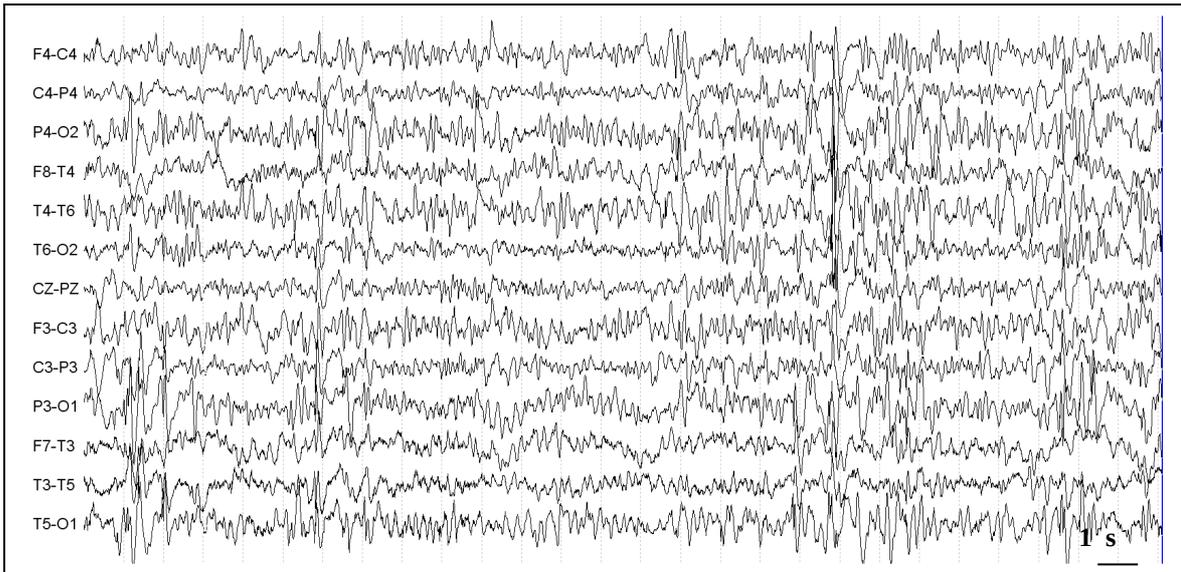


Figura 1.7. EEG in veglia all'età di 2 anni e 4 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): si noti la presenza di un'attività theta ampia e diffusa, con anomalie a tipo punta, onda aguzza e complessi punta-onda, multifocali, di ampio ed amplissimo voltaggio.

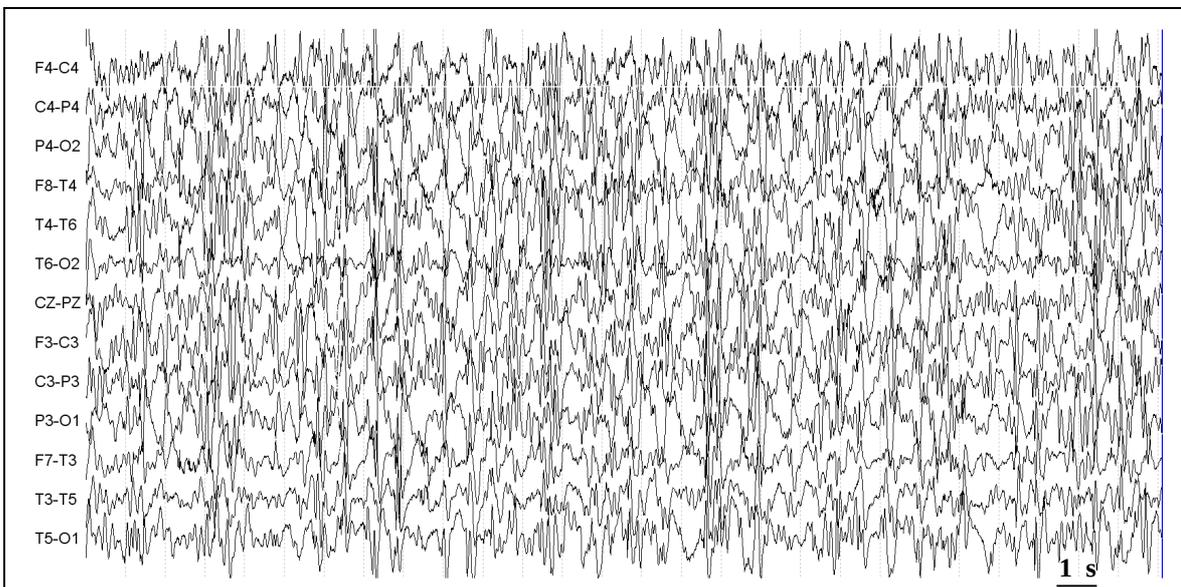


Figura 1.8. EEG in sonnolenza all'età di 2 anni e 4 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): rispetto alla veglia (Figura 1.7) netto incremento in ampiezza e frequenza delle anomalie che tendono ad essere sincrone.

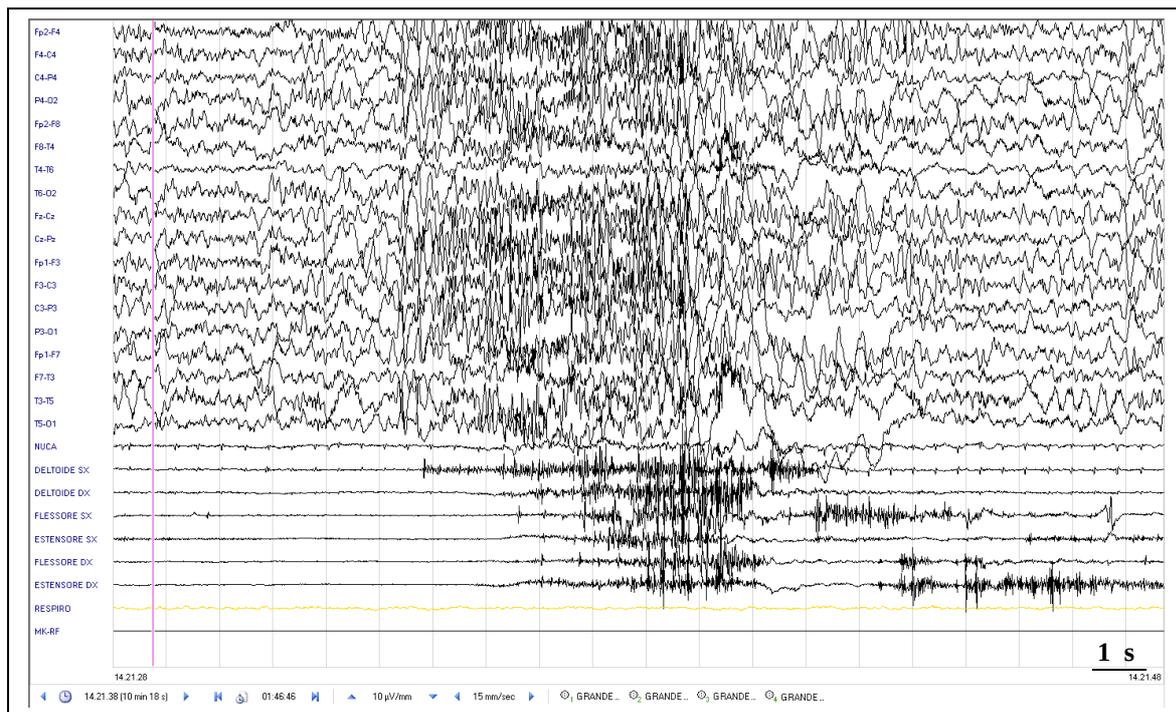


Figura 1.9. EEG in veglia all'età di 4 anni e 7 mesi (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): crisi focale caratterizzata dal punto di vista elettrico dalla comparsa di attività rapida di medio voltaggio, a livello delle regioni frontali, frammista ad onde theta, cui corrisponde a livello poligrafico un rinforzo tonico asimmetrico a livello dei muscoli deltoidi bilateralmente, inizialmente presente solo a sinistra, cui si sovrappongono potenziali poligrafici di tipo mioclonico. Dal punto di vista clinico la crisi si caratterizza per la comparsa di staring, arresto della motricità spontanea e successiva abduzione tonica degli arti superiori, più evidente a sinistra, con sovrapposte mioclonie discrete. Durante questa registrazione la bambina presenta una lunga serie di crisi focali subentranti a distanza di pochi secondi con netta riduzione dell'attività parossistica intercritica.

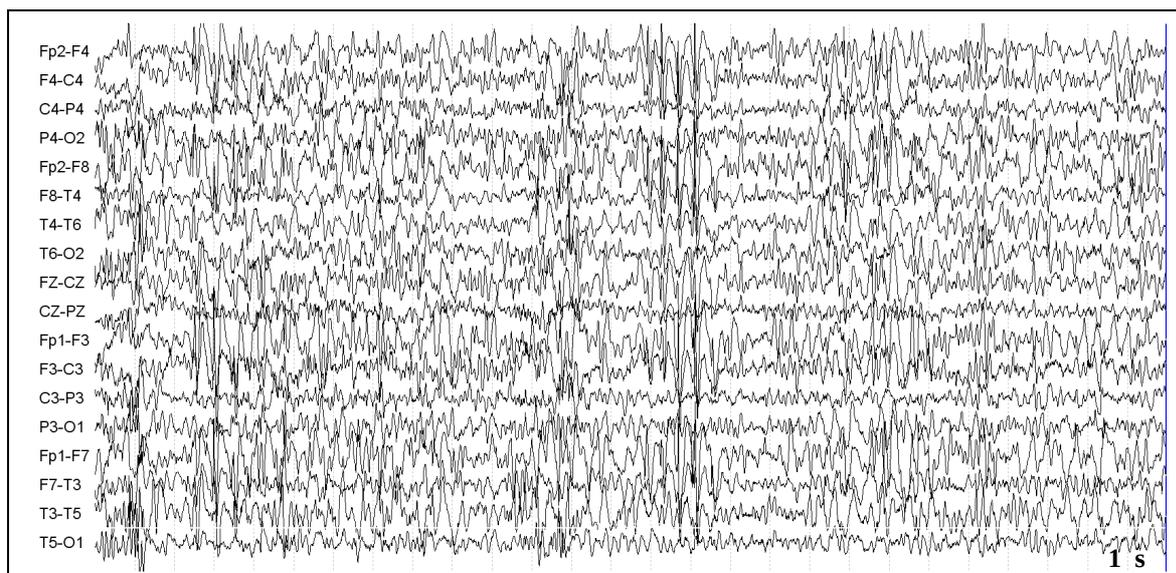


Figura 1.10. EEG in veglia all'età di 4 anni e 3 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta-delta diffusa di ampio voltaggio, non reagente, con subcontinui burst bilaterali di punte, polipunte ed onde aguzze, predominanti sulle regioni anteriori.

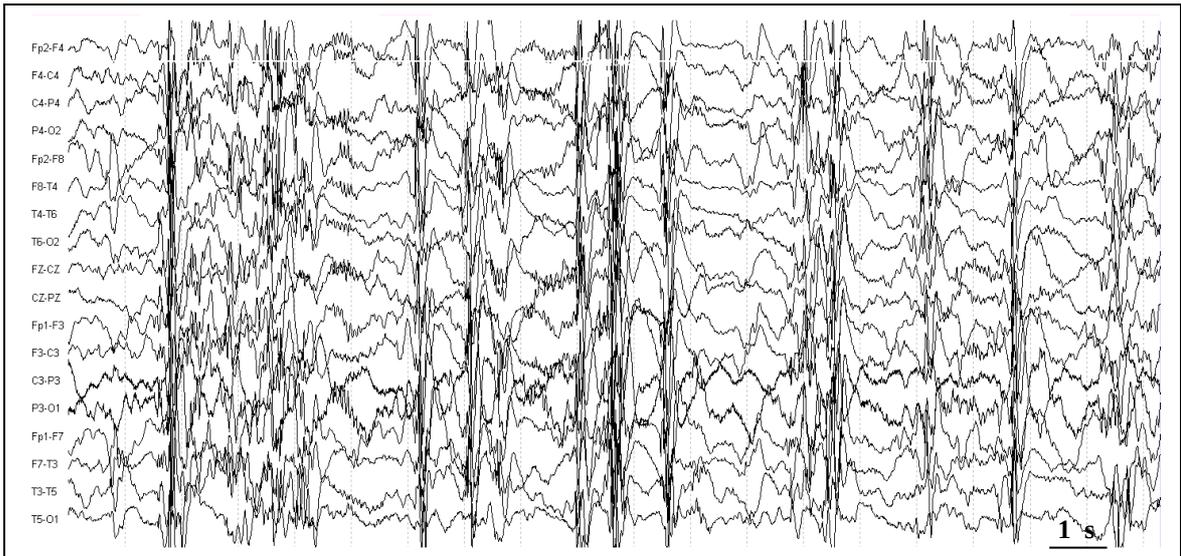


Figura 1.11. EEG in sonno all'età di 4 anni e 3 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): i burst di anomalie presenti in veglia (Figura 1.11) tendono ad essere marcatamente sincronizzati e frammentati in sonno. Si noti la presenza di brevi sequenze di attività rapida di non chiaro significato.

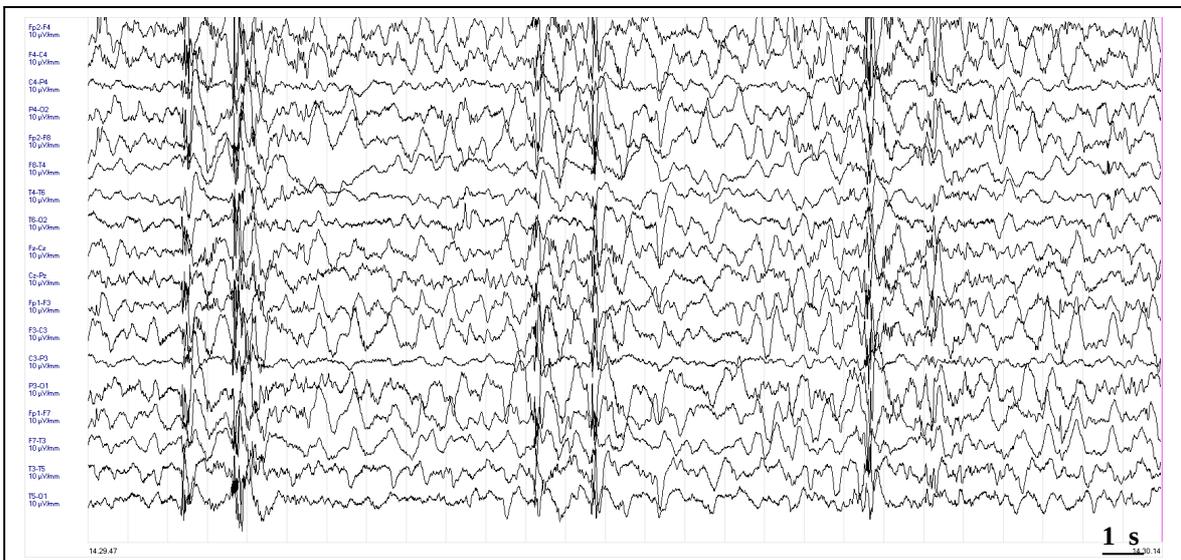


Figura 1.12. EEG in sonno all'età di 4 anni e 8 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): i burst di anomalie in sonno tendono ad assumere un andamento cosiddetto pseudo periodico. Si noti il rallentamento dell'attività tra i burst.

ICONOGRAFIA: *Paziente 2*

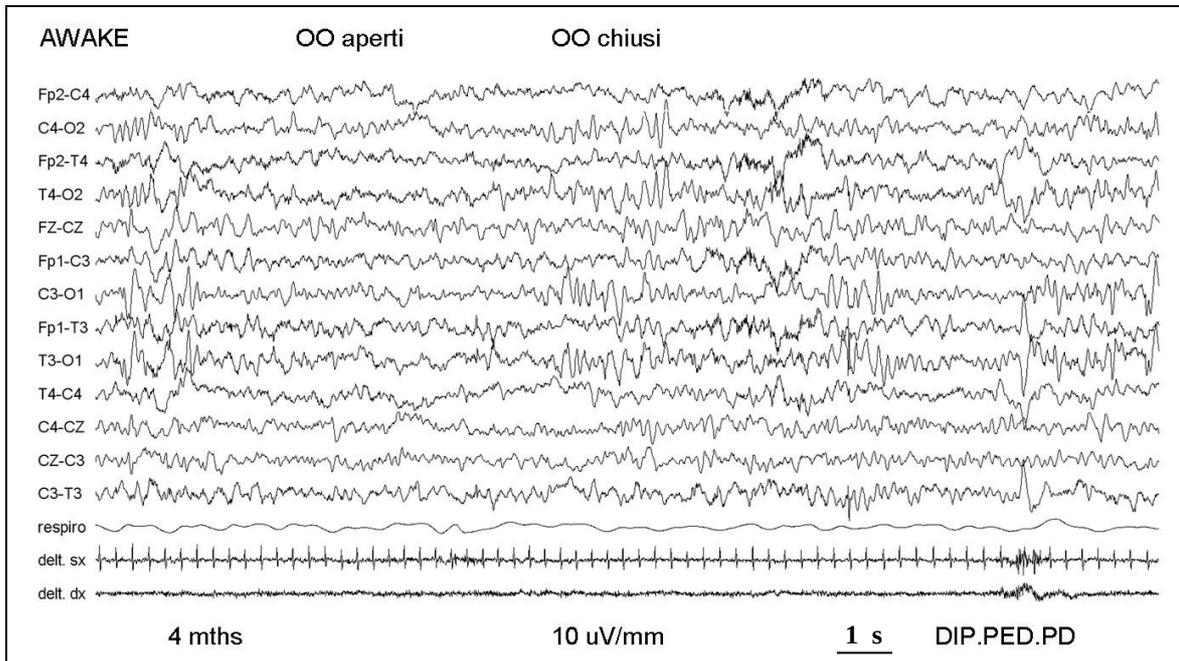


Fig. 2.1 (a) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

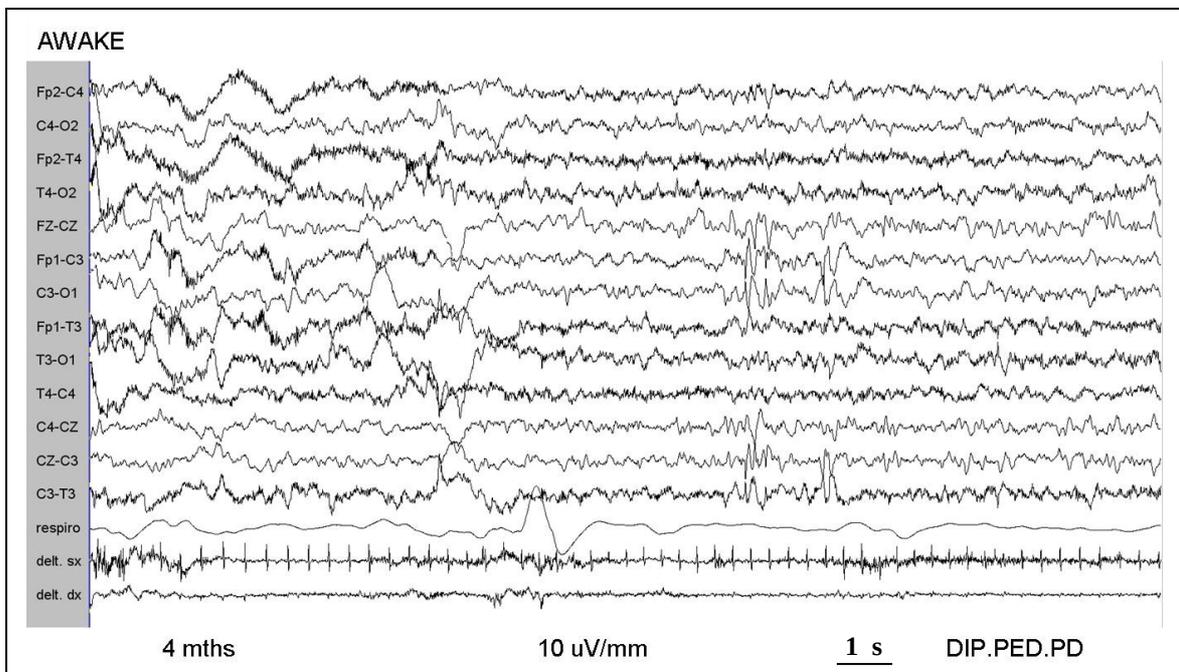


Fig. 2.1 (b) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

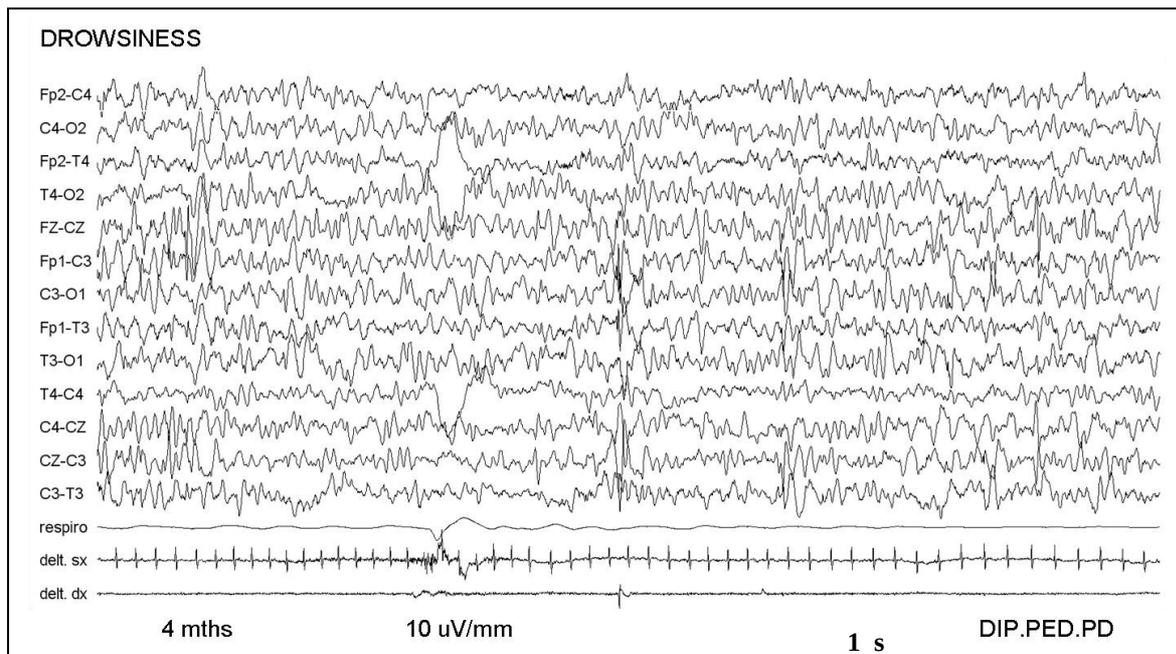


Fig. 2.1 (c) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

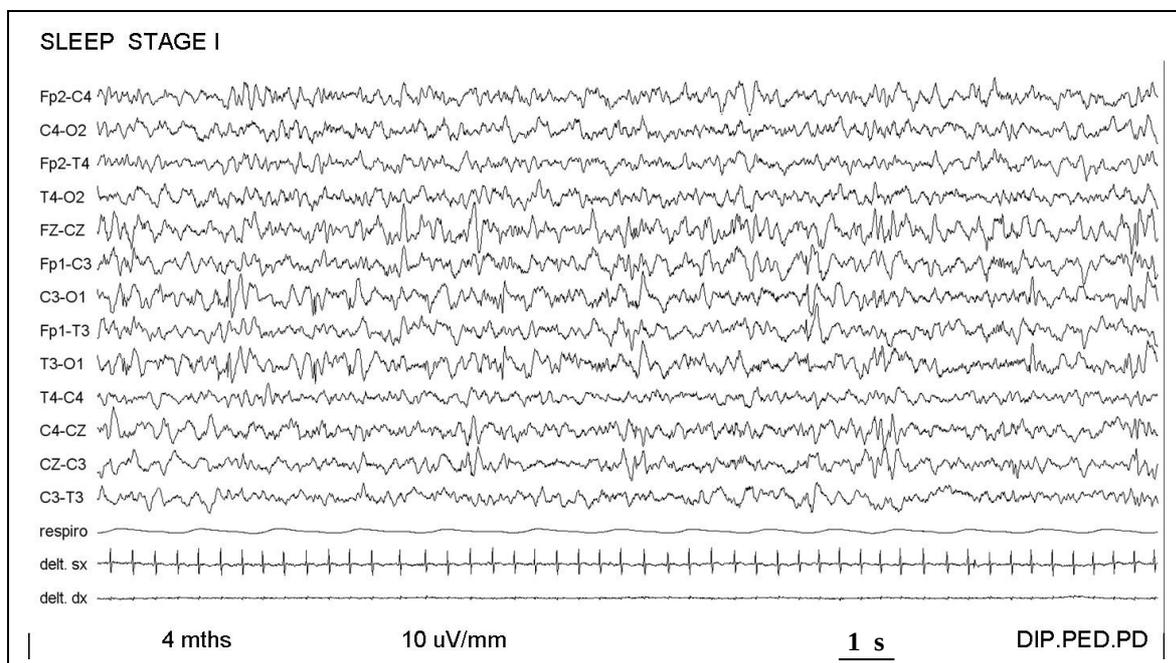


Fig. 2.1 (d) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

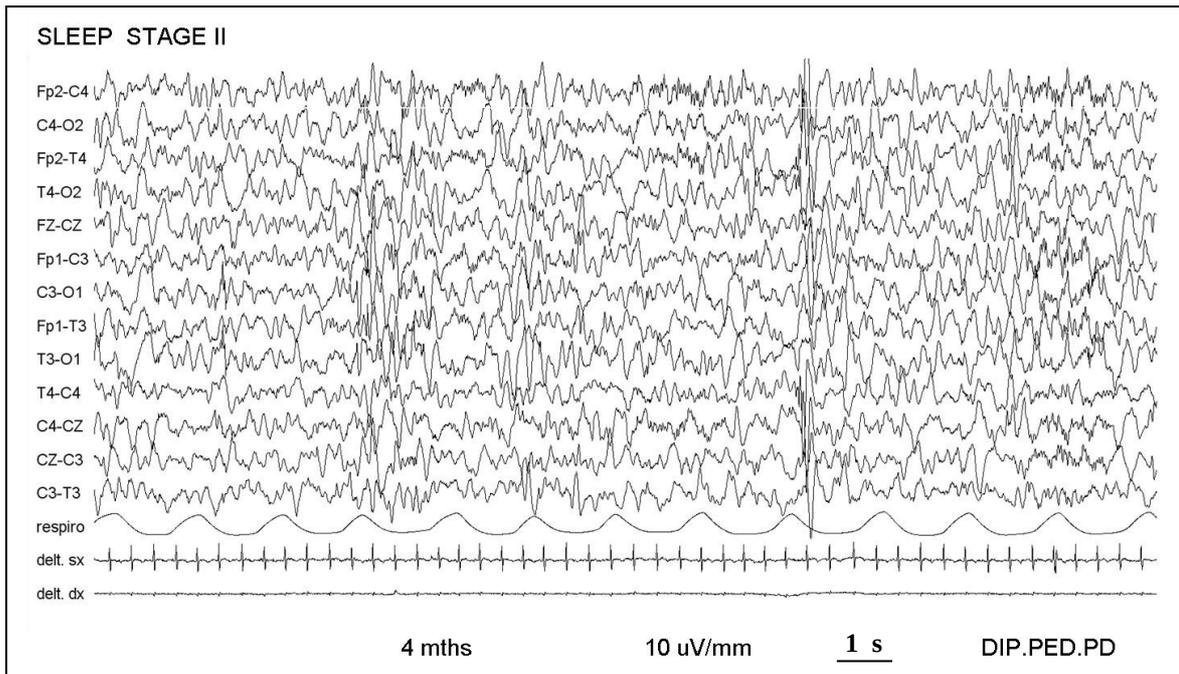


Fig. 2.1 (e) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

Figura 2.1 EEG in veglia e sonno all'età di 4 mesi: ad occhi aperti l'EEG mostra un'attività poliritmica discretamente reagente alla chiusura degli occhi che induce la comparsa di un'attività theta di medio voltaggio, frammista a sporadiche anomalie a tipo onda aguzza evidenti qui a livello delle regioni occipitali sinistre (a). Anomalie a tipo complessi punta-onda aguzza sono evidenti anche a livello centrale sinistro (b), che incrementano in sonnolenza (c). In una prima fase di sonno le anomalie ritornano a livello occipitale sinistro a tipo punta rapida di basso voltaggio (d) che in sonno fase 2 incrementano nella medesima sede in numero ed in ampiezza (e); è possibile inoltre apprezzare, nonostante la buona e simmetrica rappresentazione delle figure ipniche, la presenza incostante di onde delta ampie inabituali isolate o in brevi sequenze.

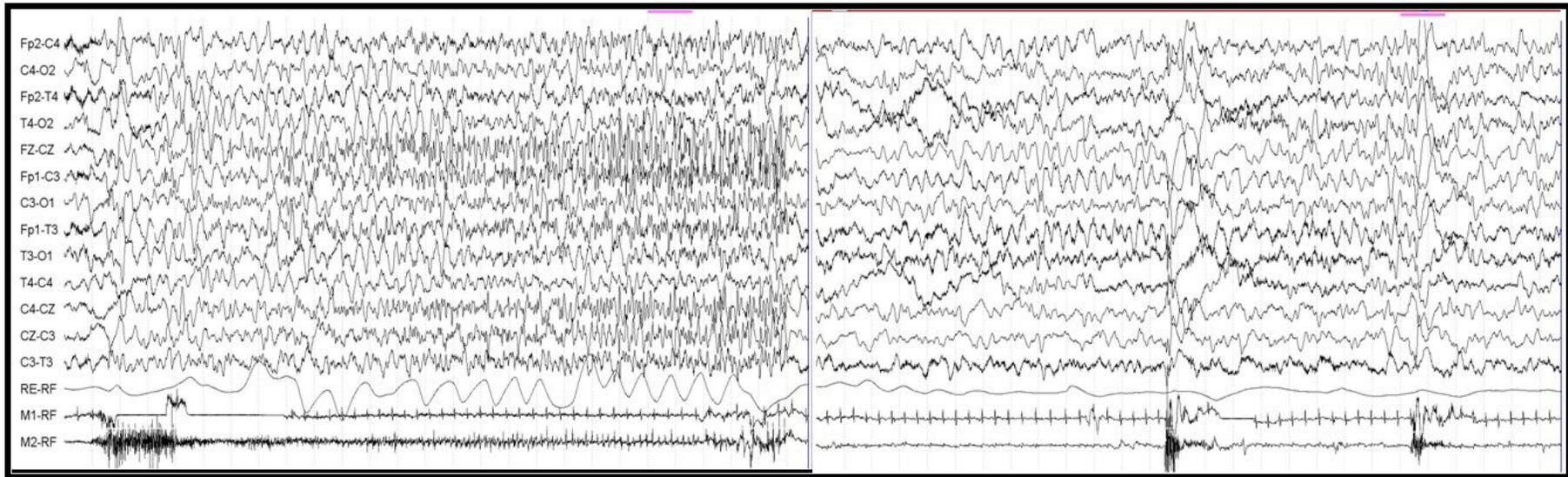
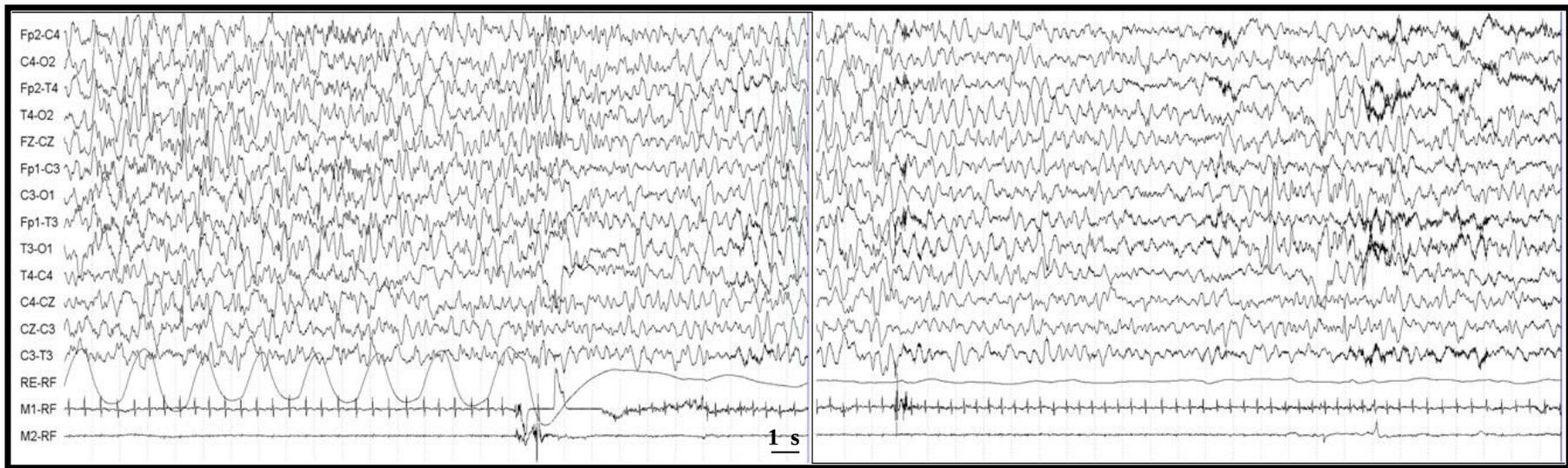


Figura 2.2 EEG in sonno a 4 mesi (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): Sonno FASE 2. Si noti la presenza accanto ai fusi di un'attività delta inabituale per l'età. Ad un certo punto la bambina presenta un risveglio con un piccolo sussulto cui segue un aggiustamento posturale con estensione e sopraelevazione dell'arto superiore dx e una superficializzazione del respiro, evidente anche alla poligrafia con incerto correlato EEG. La bimba si muove, apre e chiude gli occhi, sporge la lingua e poi sembra immediatamente riassopirsi (pagina 1), mentre sul tracciato è evidente un'attività delta di ampio voltaggio abbastanza diffusa che si fa poi ritmica attenuandosi in voltaggio (pagina 2). Segue pattern critico della durata di 18 secondi a partenza dalle regioni fronto-centrali sinistre e vertice con rapida diffusione alle restanti regioni dell'emisfero omolaterale. Dal punto di vista clinico la bambina apre gli occhi, presenta deviazione oculare verso destra con associata smorfia facciale quindi flessione dei quattro arti con arti superiori elevati con mani chiuse, modesto ipertono bilaterale, assente risposta alla minaccia, concomitante movimento clonico all'arto inferiore di sinistra ed arto superiore destro, poi occhi deviati a sinistra (pagina 3). Successivamente la bambina presenta un movimento a tipo spasmo in estensione isolato, seguito dopo 9 sec da un altro identico. In concomitanza di tali movimenti a tipo spasmo si osserva a livello elettrico un'onda isolata di ampissimo voltaggio bilaterale e diffusa e a livello poligrafico un pattern a tipo spasmo (durata 500msec) meglio evidente a livello del deltoide dx (M2 in figura).

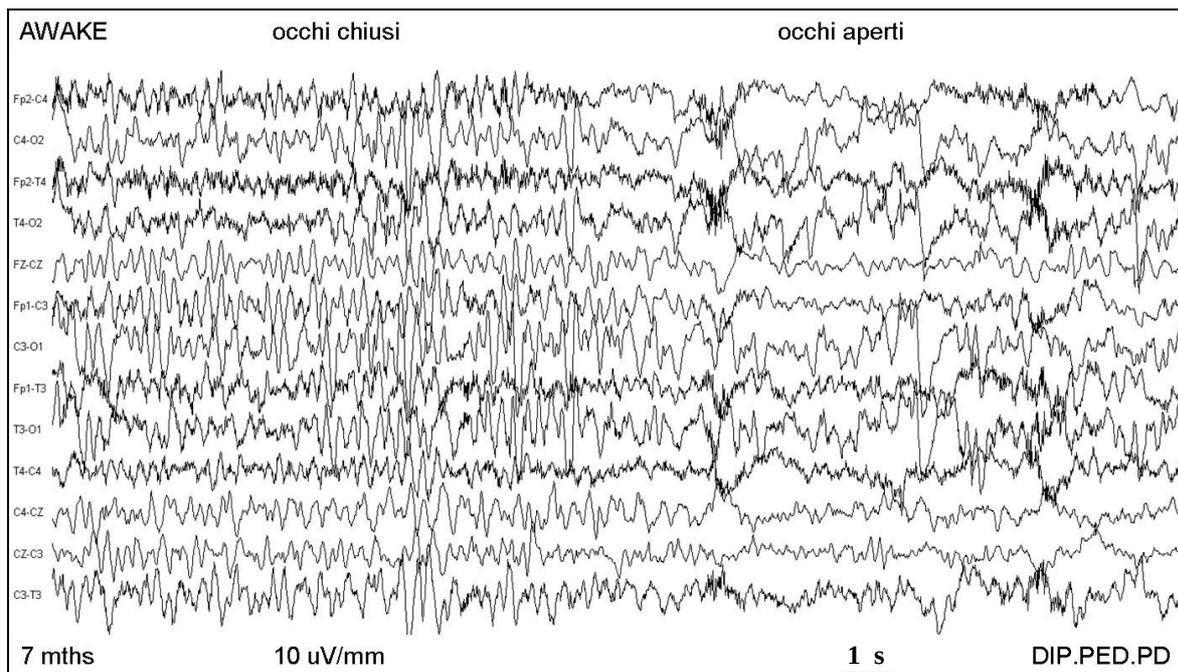


Fig. 2.3 (a) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

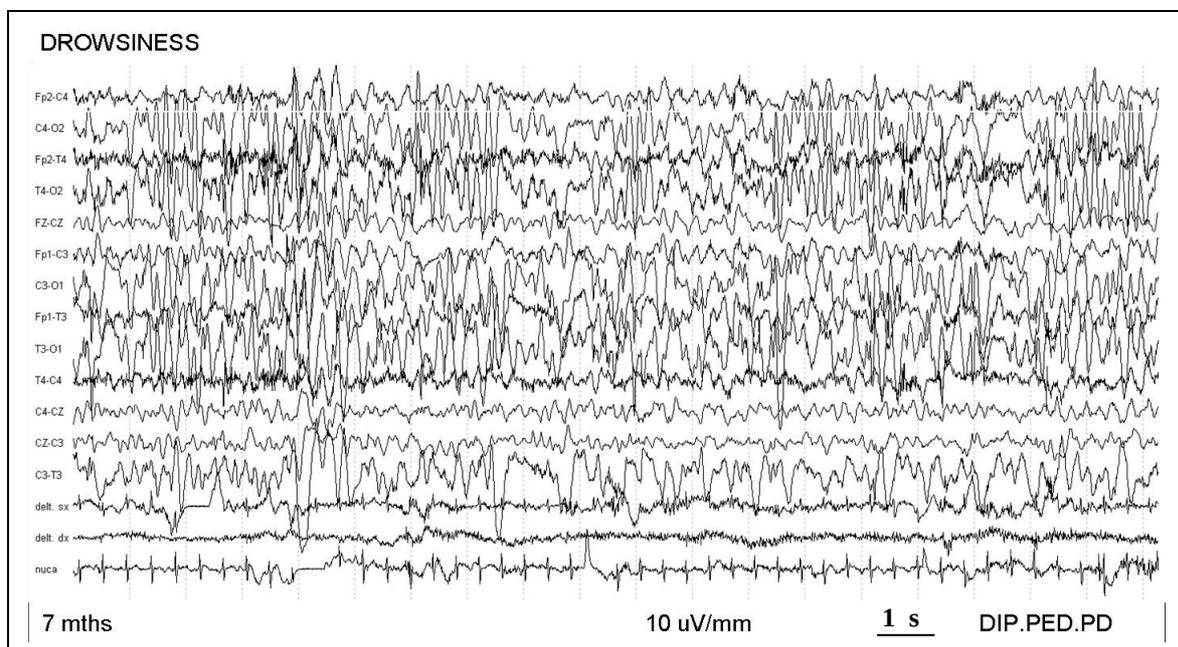


Fig. 2.3 (b) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

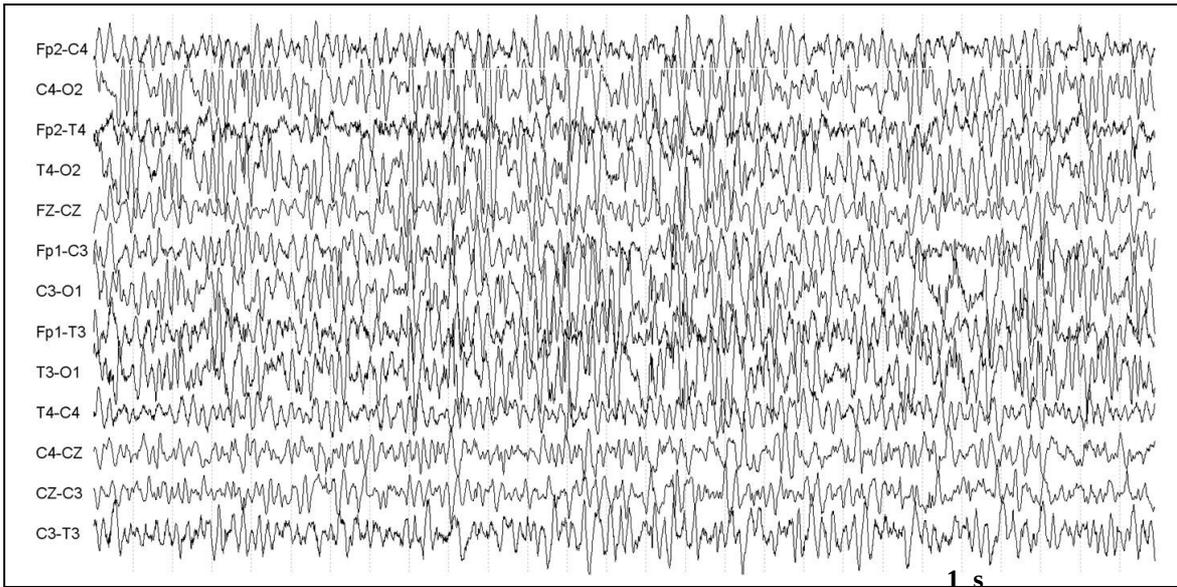


Fig. 2.3 (c) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

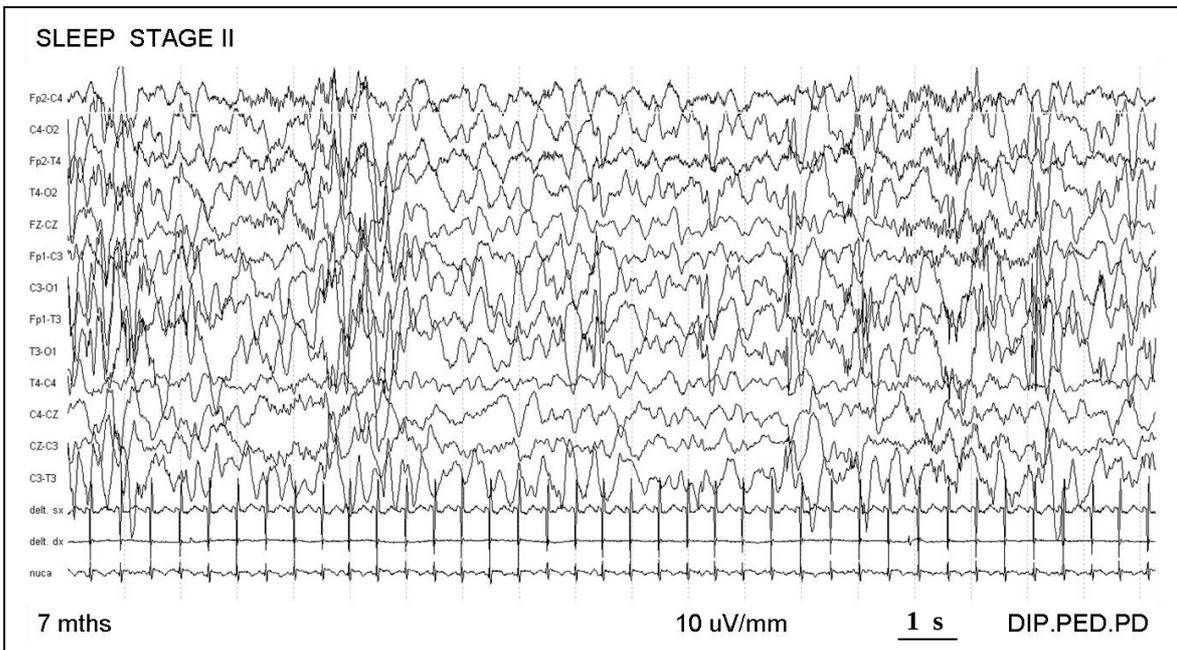


Fig. 2.3 (d) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec). Vedi didascalia.

Figure 2.3. EEG a 7 mesi di età in veglia, sonnolenza, sonno: si noti in veglia la presenza di un'attività theta posteriore ad occhi chiusi a 5 Hz di ampio voltaggio, incostantemente frammista a punte di basso voltaggio (a). In sonnolenza si assiste a un ulteriore incremento delle anomalie frammiste ad attività theta continua di ampio voltaggio dapprima a livello delle regioni posteriori (b) e successivamente diffusa (c). In una successiva fase due di sonno, pur essendo discretamente rappresentate le spindles, si può apprezzare un incremento di attività lenta frammista (d).

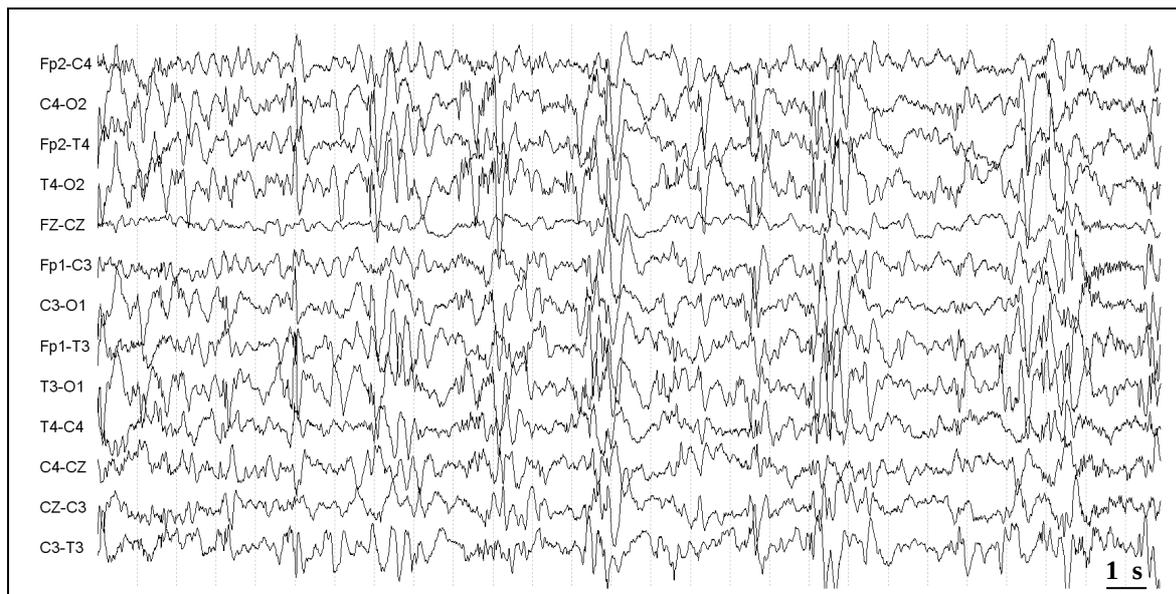


Figura 2.10. EEG all'età di 10 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): Sonno seconda fase. Si noti l'iniziale tendenza delle anomalie ad essere bisincrone.

ICONOGRAFIA: *Paziente 3*

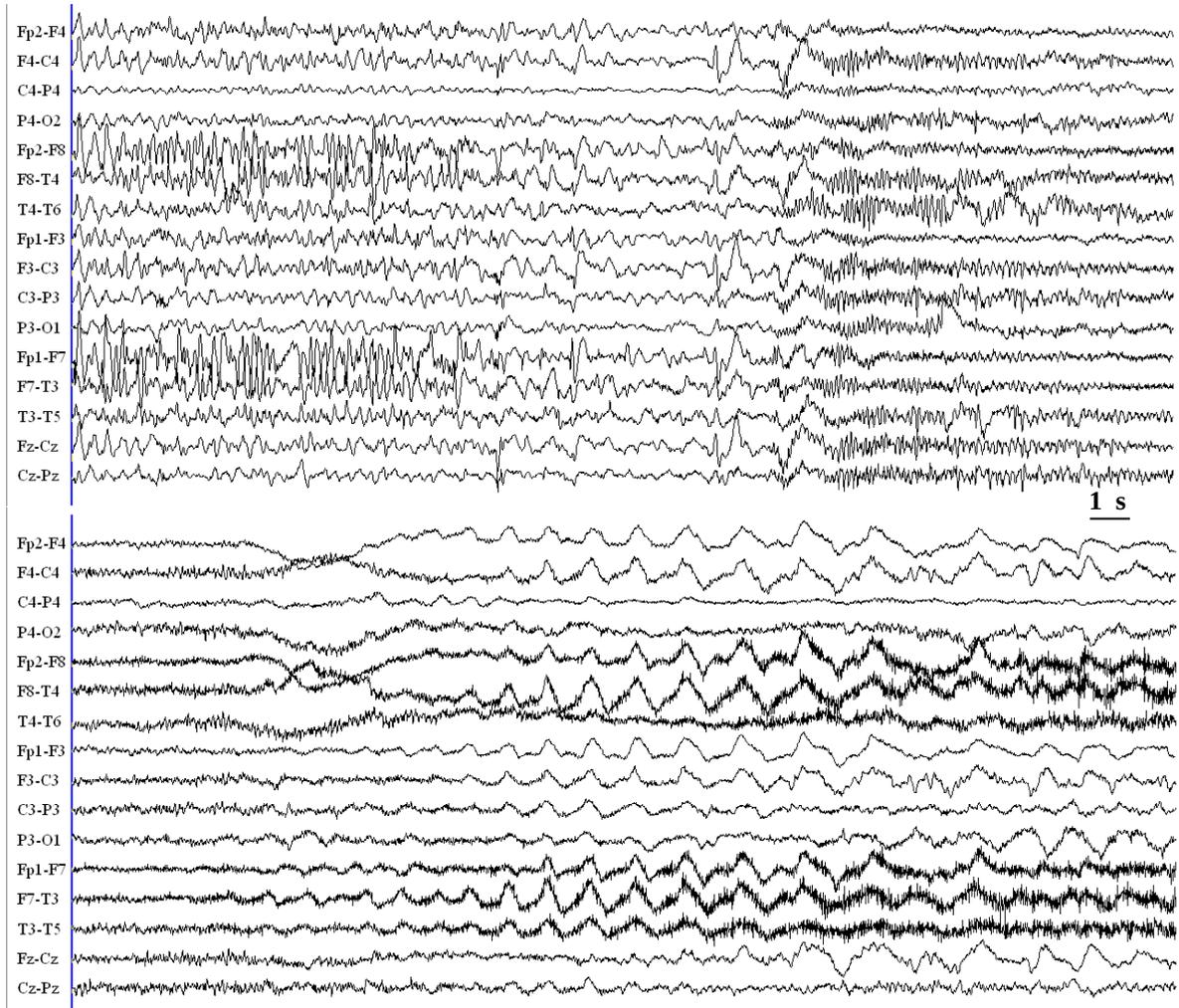


Figura 3.1. EEG all'età di 3 anni e 9 mesi (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): in sonno sequenza di onde aguzze bi frontali ritmiche, seguita dopo circa 4 secondi da una sequenza di attività rapida diffusa a voltaggio decrescente cui corrisponde ipertono assiale, seguita da attività delta ritmica più ampia sulle regioni frontali. Si ripetono numerosi episodi simili durante la registrazione e l'attività intercritica risulta inusualmente di voltaggio ridotto (*per gentile concessione dr.ssa Zamponi, NPI Ancona*).

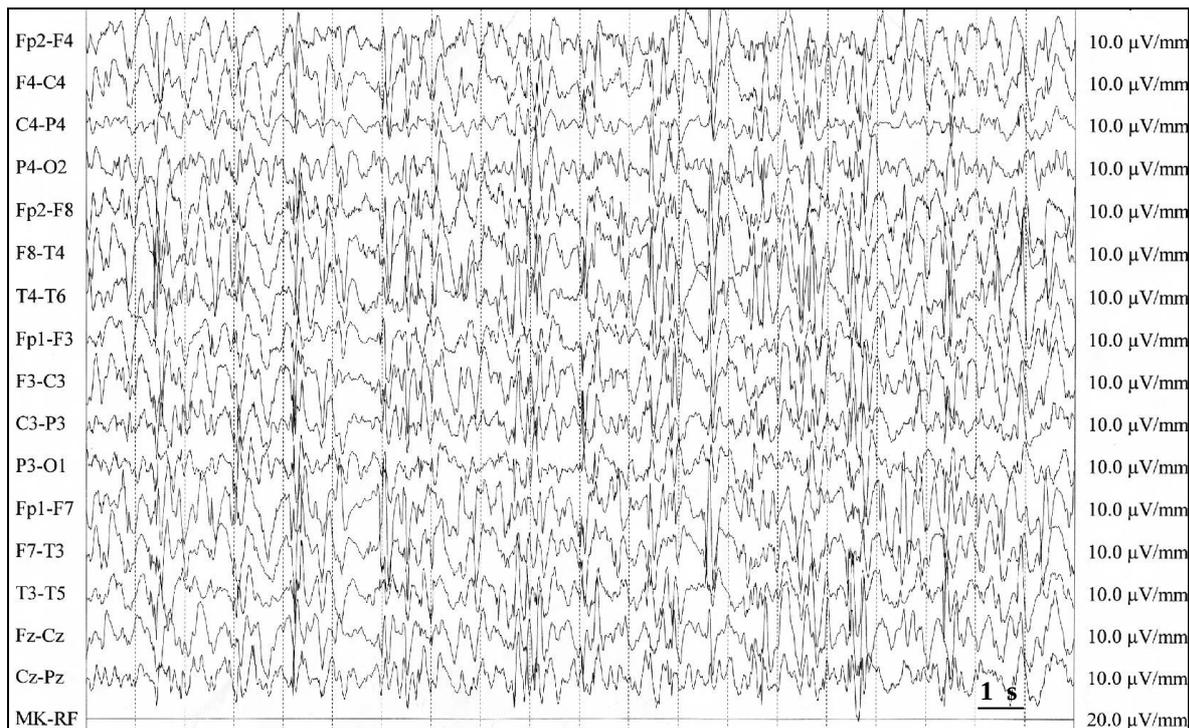


Figura 3.2. EEG all'età di 3 anni e 9 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta delta di medio-ampio con sovrapposte subcontinue anomalie a tipo punta, polipunta ed onda aguzza, bilaterali, prevalenti sulle regioni anteriori, con tendenza al bisincronismo (per gentile concessione dr.ssa Zamponi, NPI Ancona).

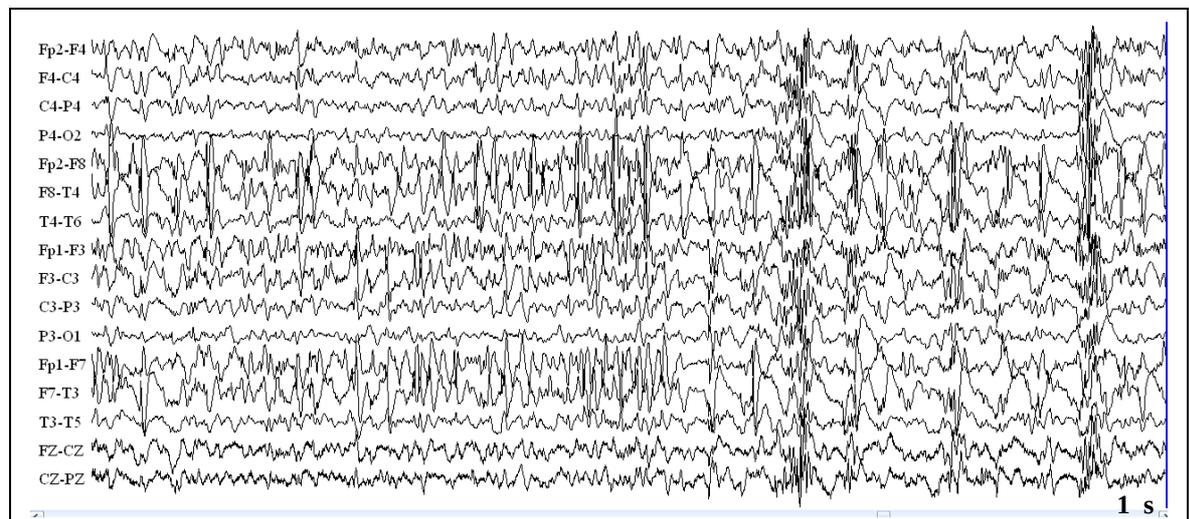


Figura 3.3. EEG all'età di 4 anni e 9 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta delta di medio-ampio non reagente, con sovrapposte subcontinue anomalie a tipo punta, polipunta ed onda aguzza, bilaterali, prevalenti sulle regioni anteriori, con tendenza al bisincronismo, configurando bouffe diffuse di complessi a tipo polipunta-onda lenta, ad andamento cosiddetto pseudo periodico (per gentile concessione dr.ssa Zamponi, NPI Ancona).

ICONOGRAFIA: *Paziente 4*

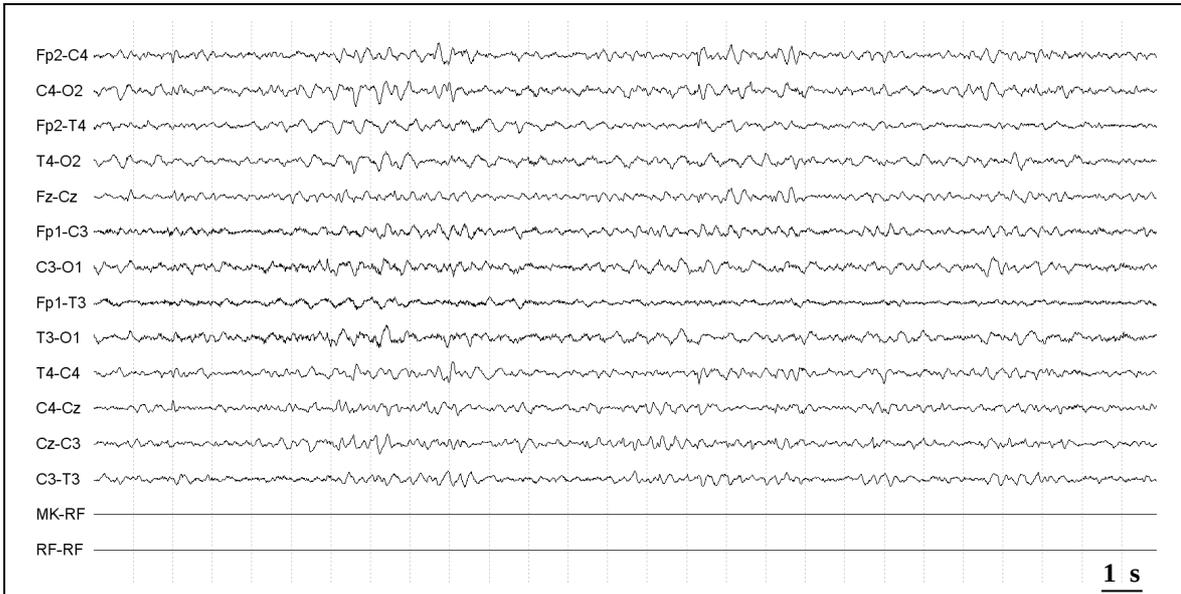


Figura 4.1. EEG in veglia all'età di 2 mesi e 20 giorni (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): discreta organizzazione dell'attività elettrica in veglia con presenza di onde lente in brevi sequenze a livello delle regioni posteriori e di isolate onde aguzze bifasiche, a livello delle regioni centrali, entrambe prevalenti a destra.

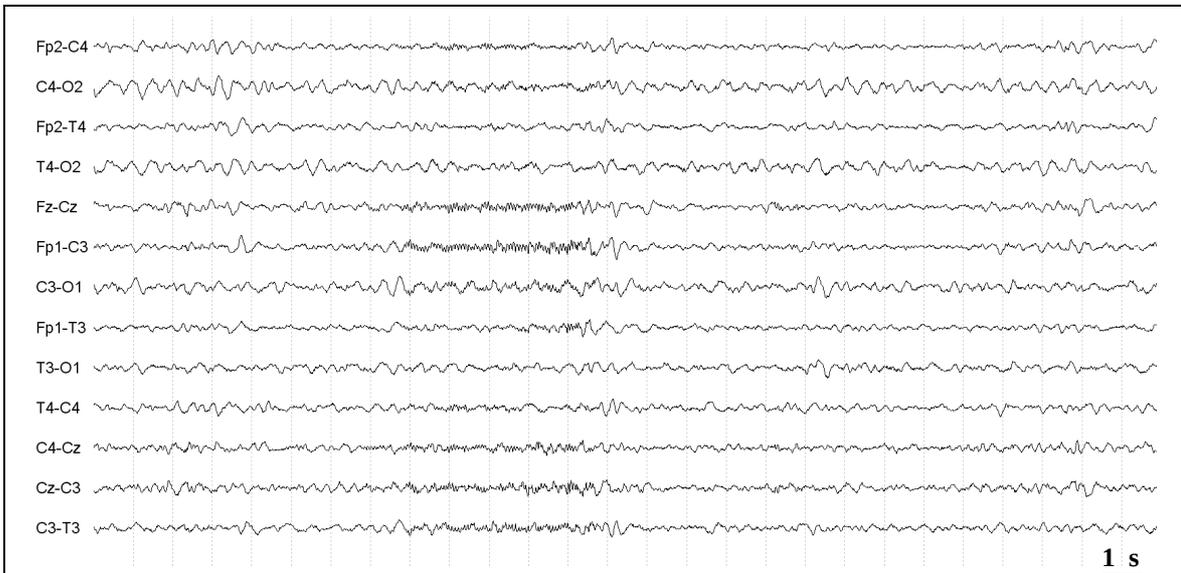


Figura 4.2. EEG in sonno all'età di 2 mesi e 20 giorni (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): discreta organizzazione dell'attività elettrica in sonno, con presenza di onde lente in brevi sequenze a livello delle regioni posteriori, prevalenti a destra.

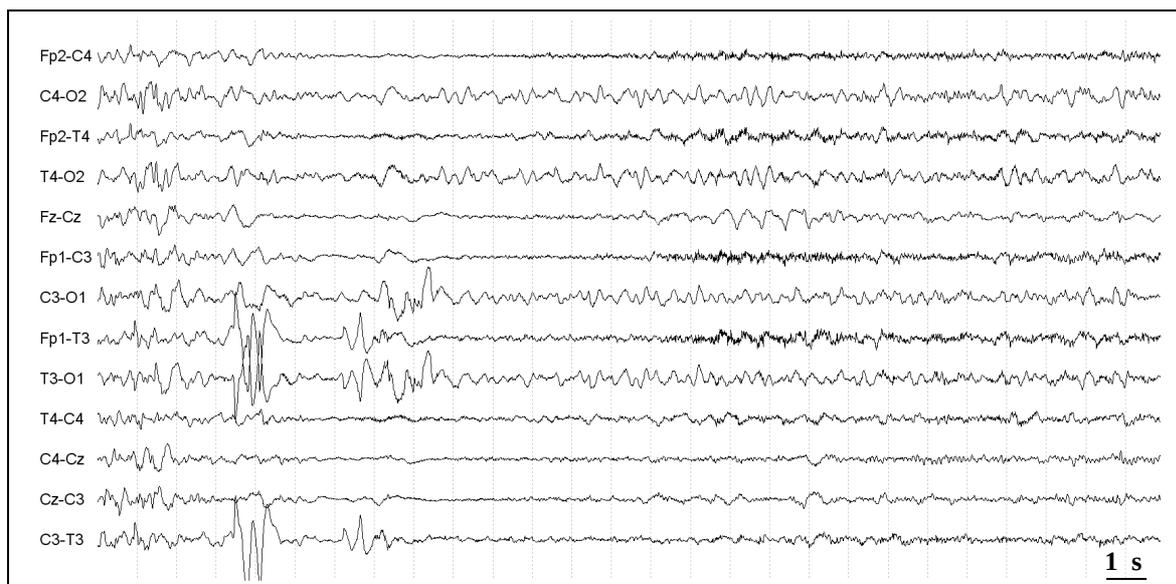


Figura 4.3. EEG in sonno all'età di 2 mesi e 20 giorni (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): in sonno seconda fase brusco appiattimento dell'attività elettrica prevalente a livello delle due regioni centrali seguito da attività rapida di ampiezza progressivamente incrementante e frequenza decrescente, più evidente sulle derivazioni trasversali a livello del vertice destro. Tale attività prosegue per circa 40 secondi con tendenza alla diffusione alle regioni adiacenti (non mostrato). Dal punto di vista clinico si segnalano ipertono, sguardo deviato verso l'alto, quindi clonie palpebrali bilaterali.

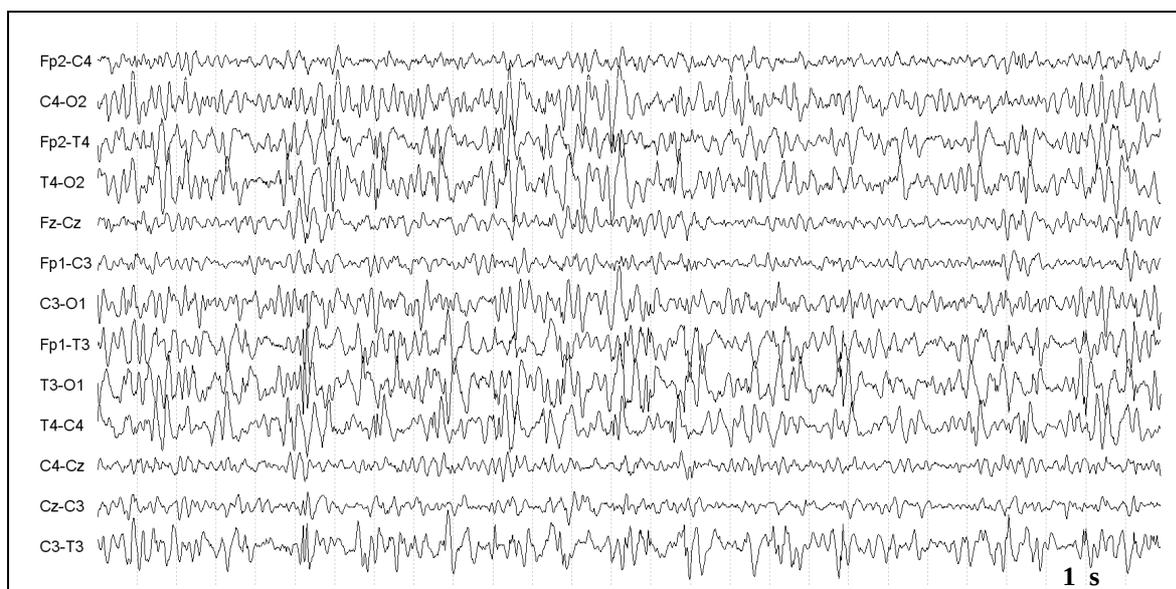


Figura 4.4. EEG in veglia all'età di 5 mesi e mezzo (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta ampia, bilaterale, prevalente a livello delle regioni temporo-occipitali, con anomalie a tipo punta, onda aguzza, a livello delle due regioni temporali, prevalenti a sinistra, frammiste a onde lente degradate ampie.

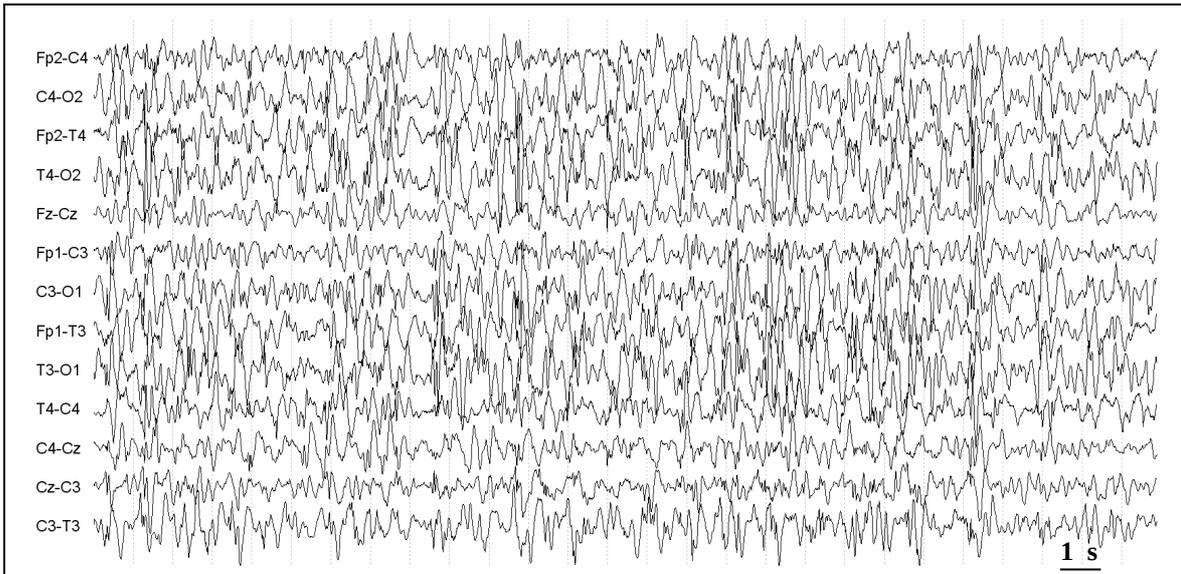


Figura 4.5. EEG in veglia all'età di 6 mesi e 20 giorni (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): anomalie multifocali di ampio voltaggio associate ad onde lente ampie o amplissime.

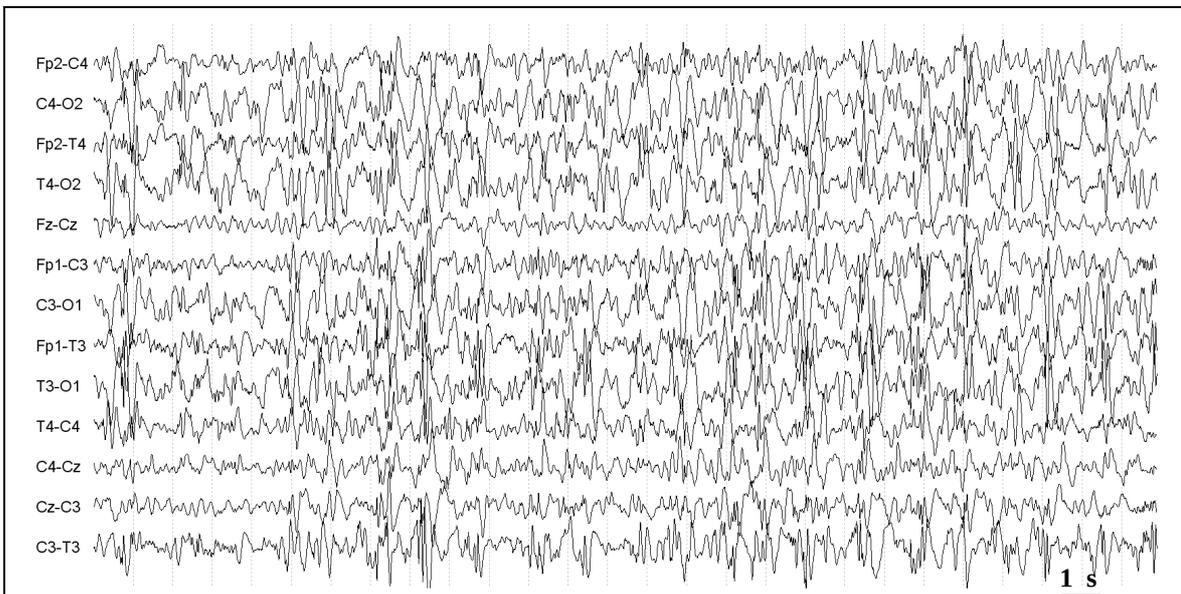


Figura 4.6. EEG in veglia all'età di 7 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): le anomalie sono qui più bisincrone e frammentata attività della banda theta.

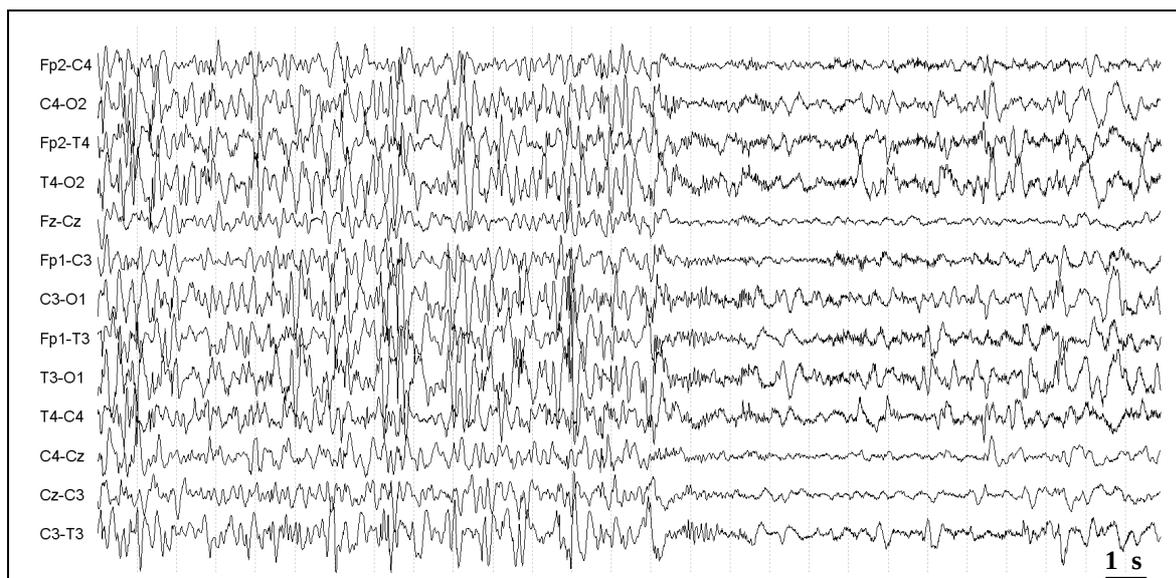


Figura 4.7. EEG in sonno a 6 mesi e 20 giorni (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): brusca depressione dell'attività elettrica con comparsa di attività rapida di medio voltaggio per circa 2 secondi e mezzo e successiva lenta ripresa dell'attività precedente. Dal punto di vista clinico si segnala ipertono diffuso, capo in asse, sguardo leggermente deviato verso sinistra per 2-3 secondi.

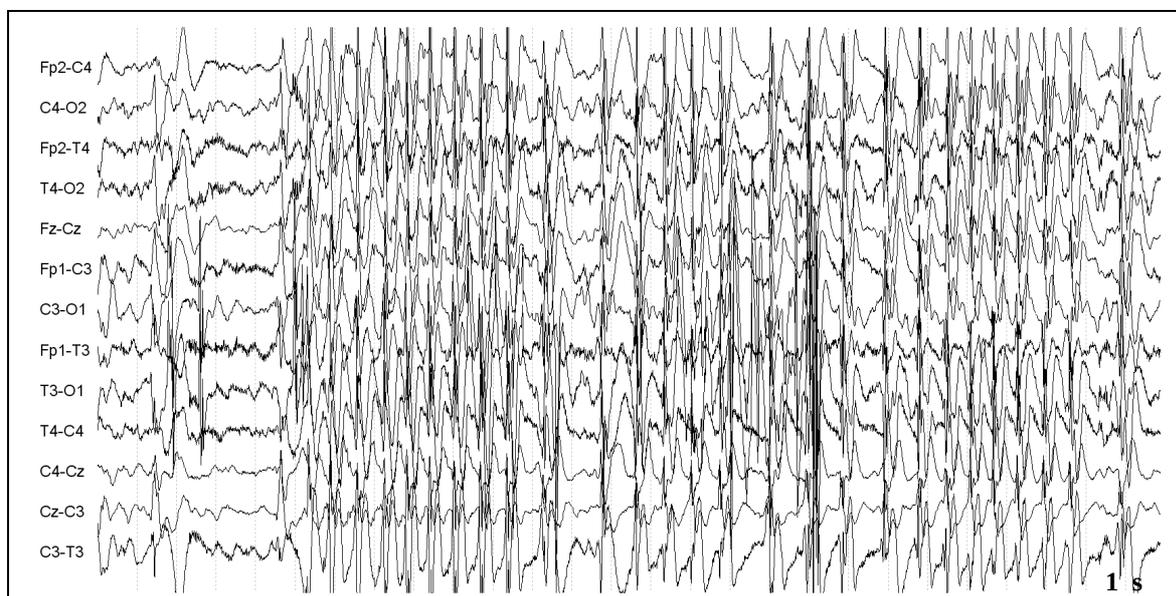


Figura 4.8. EEG all'età di 1 anno in veglia (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): brusca diffusa riduzione dei voltaggi, seguita da complessi punta-onda di amplissimo voltaggio, a 2 Hz, ritmici, bilaterali e diffusi. Dopo circa 20 secondi, seguono diffuso rallentamento dell'attività elettrica e successiva ripresa dei parossismi. Dal punto di vista clinico si segnala sguardo fisso e successive scosse ritmiche al cingolo superiore.

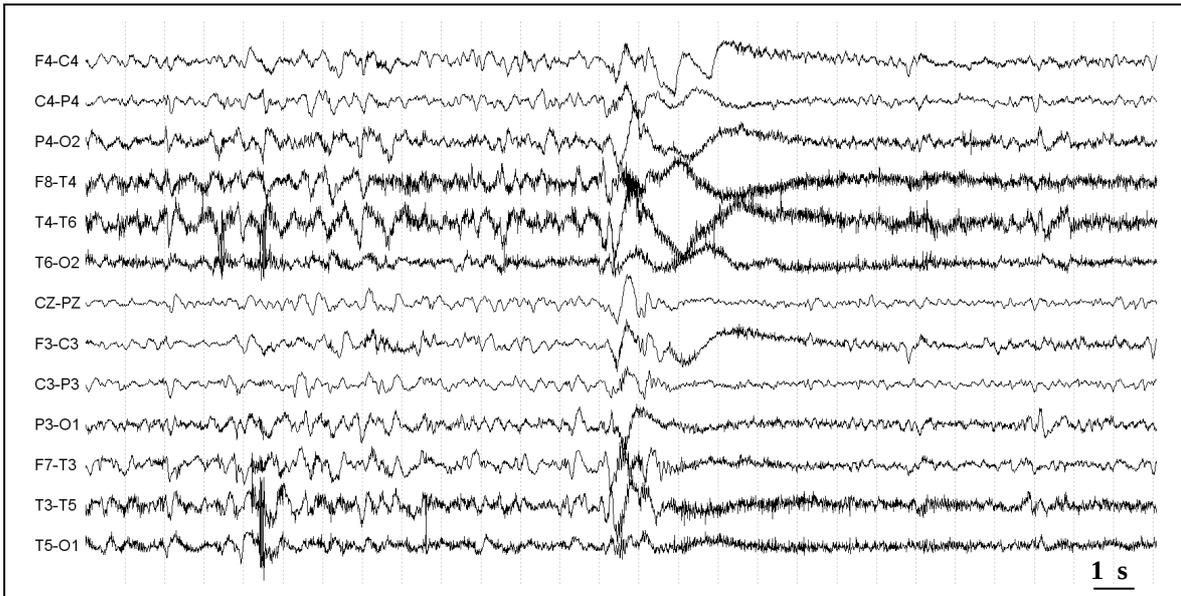


Figura 4.9. EEG all'età di 2 anni e mezzo in veglia (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): onda lenta ampia diffusa su cui si sovrascrive una sequenza attività rapida di basso voltaggio di breve durata con successiva fase di depressione dei voltaggi prima della ripresa (non mostrata) dell'attività precedente. Dal punto di vista clinico si segnala improvviso ipertono prevalentemente assiale. Si noti come in quest'epoca sia presente, inusualmente, un'attività lenta monofronda di media ampiezza.

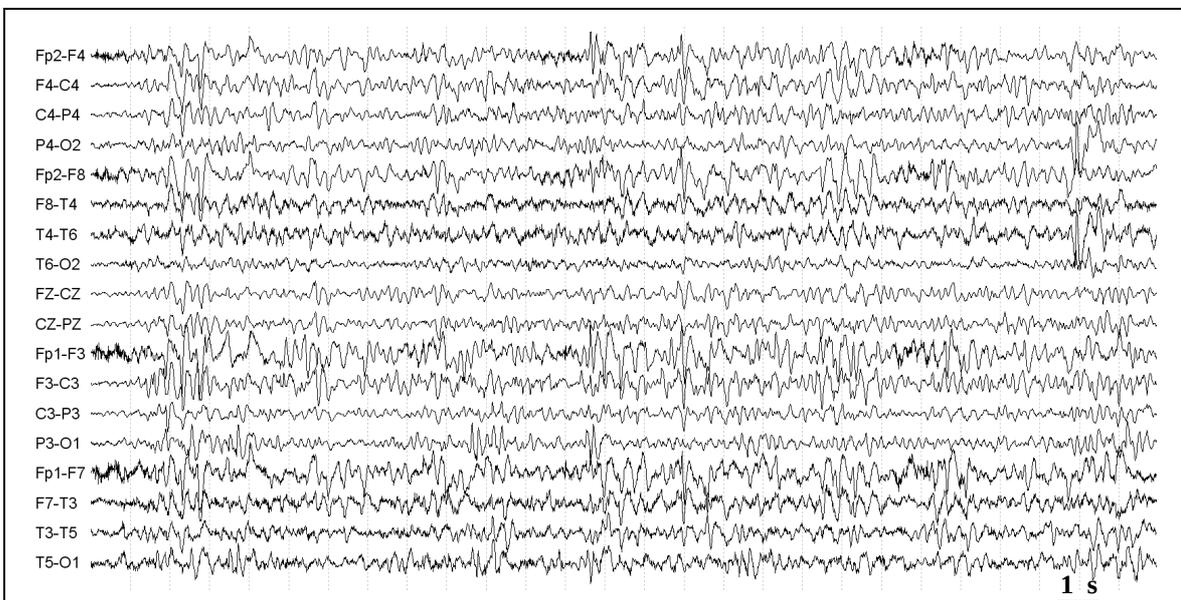


Figura 4.10. EEG in veglia all'età di 10 anni e 3 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta-delta, più ampia sulle due regioni anteriori, frammista ad anomalie multifocali a tipo onda aguzza.

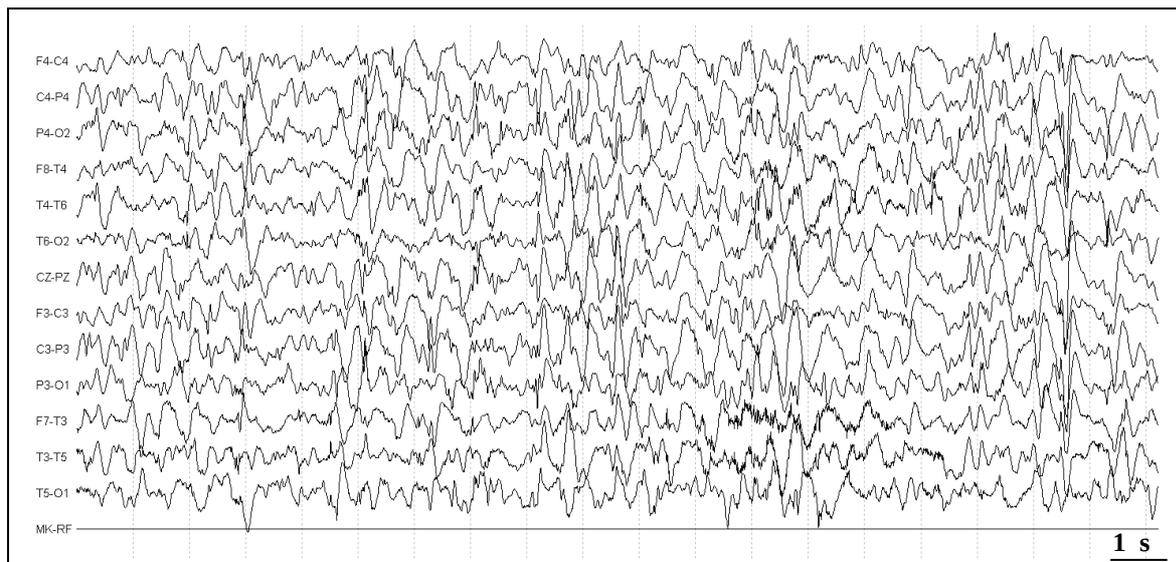


Figura 4.11. EEG in veglia a 3 anni e 2 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): si noti qui la prevalenza di onde delta diffuse di ampio voltaggio con sovrascritte numerose punte, polipunte e onde aguzze.

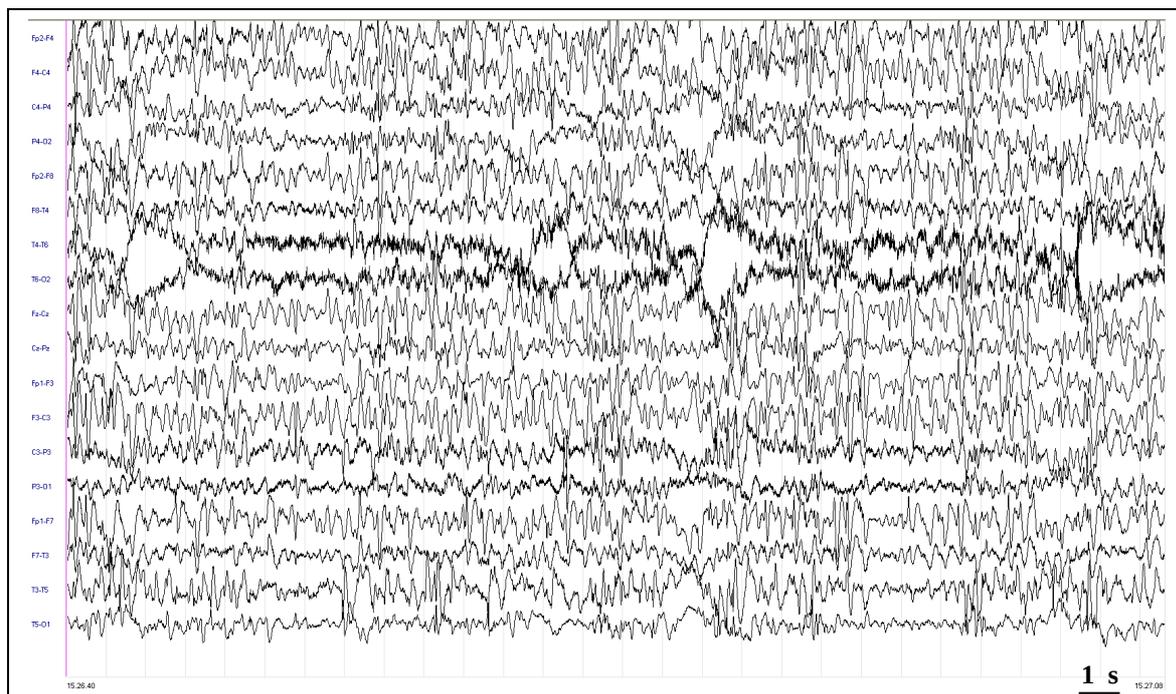


Figura 4.12. EEG in veglia all'età di 11 anni e 8 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): rispetto a quanto rappresentato in Figura 4.10 e Figura 4.11 si noti qui l'accentuazione dell'attività parossistica sotto forma di subcontinui complessi irregolari onda aguzza-onda lenta amplissimi a livello delle due regioni frontali, associati ad attività theta frammentata bilaterale scarsamente rappresentata ed a rare anomalie multifocali.

ICONOGRAFIA: *Paziente 5*

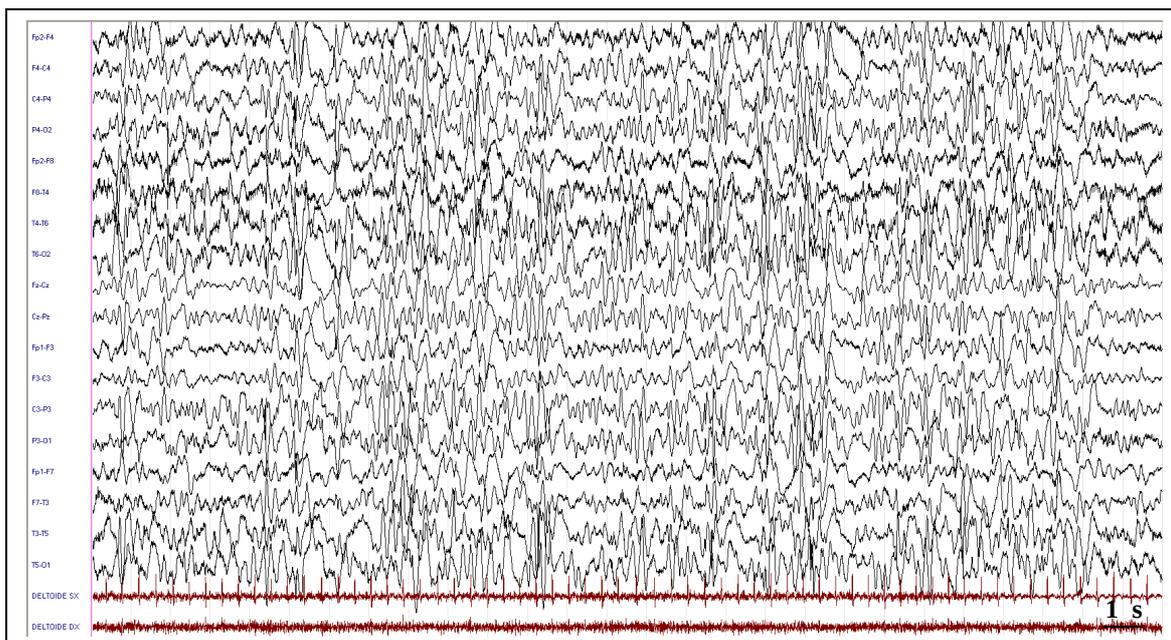


Figura 5.1. EEG in veglia all'età di 11 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta di ampio ed amplissimo voltaggio, bilaterale prevalente a livello delle regioni posteriori, frammista ad anomalie multifocali, a tipo punta, polipunta ed onda aguzza, prevalenti ed indipendenti a livello delle regioni posteriori, maggiormente a sinistra, incrementanti in sonnolenza e sonno (non mostrato).

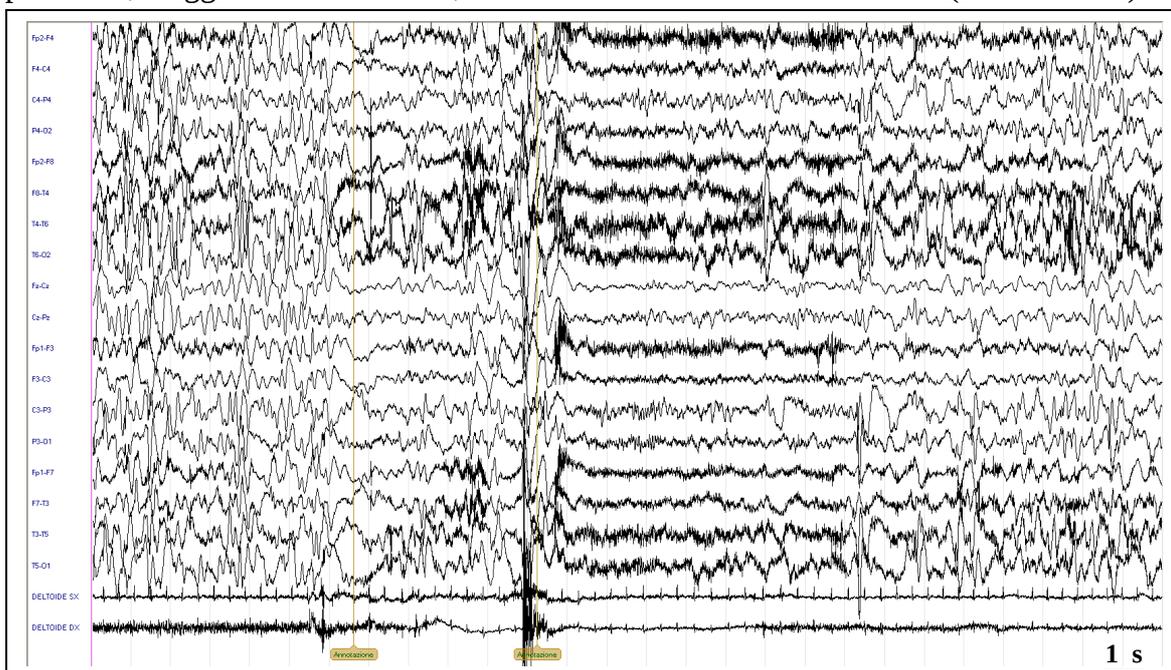


Figura 5.2 EEG in veglia all'età di 11 mesi (crisi) (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): la bambina sta bevendo al biberon, presenta dapprima qualche colpo di tosse che produce una diffusa attenuazione dei voltaggi e scomparsa dell'attività precedentemente descritta (vedi **Figura 5.1**), cui fa seguito uno spasmo in flessione del capo e degli arti superiori, seguito per circa 3 secondi da flessione tonica del capo. Dal punto di vista elettrico compare un'onda trifasica di amplissimo voltaggio, seguita ad attività rapida di basso voltaggio irregolare bilaterale diffusa, qui forse più evidente a livello delle regioni centro-parietali sinistre. Dal punto di vista poligrafico si noti brusca contrazione seguita da un rinforzo tonico a carico dei muscoli deltoidi.

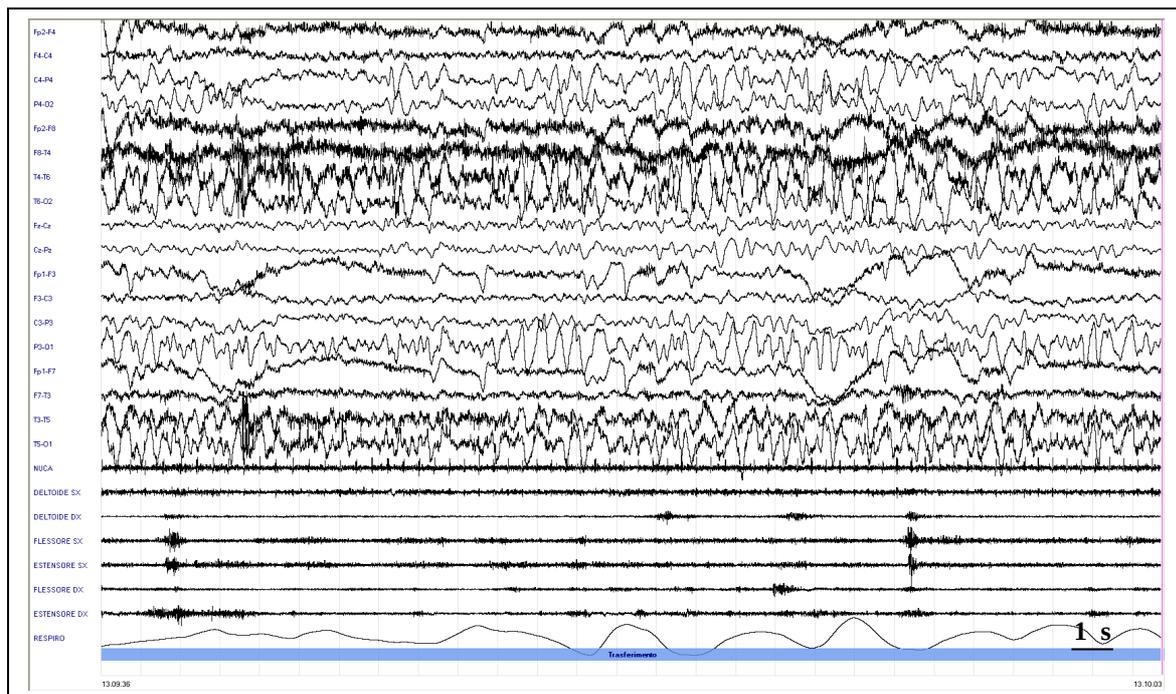


Figura 5.3. EEG in sonnolenza all'età di 12 mesi (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): attività theta-delta di basso voltaggio (recente trattamento con ACTH) con onde lente ampie e continue a livello delle regioni posteriori bilateralmente, in assenza di chiare anomalie epilettiformi.

ICONOGRAFIA: *Paziente 6*

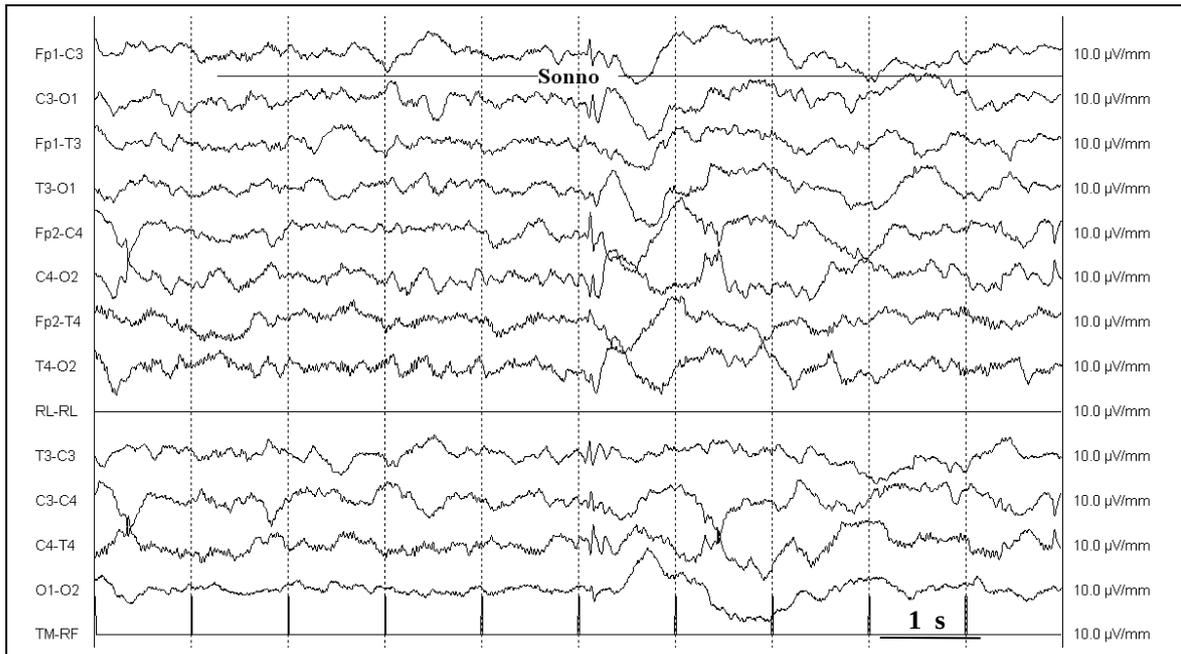


Figura 6.1. EEG critico all'età di 3 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 30 mm/sec): EEG registrato durante una serie di spasmi. Si noti la presenza di un'onda lenta diffusa di medio-ampio voltaggio, preceduta da una punta difasica più evidente sulle regioni centrali di entrambi gli emisferi, seguita da un breve appiattimento del tracciato. In corrispondenza di tale parossismo il bambino presenta manifestazione motoria a tipo spasmo. (per gentile concessione dr.ssa Di Rosa, NPI Messina).

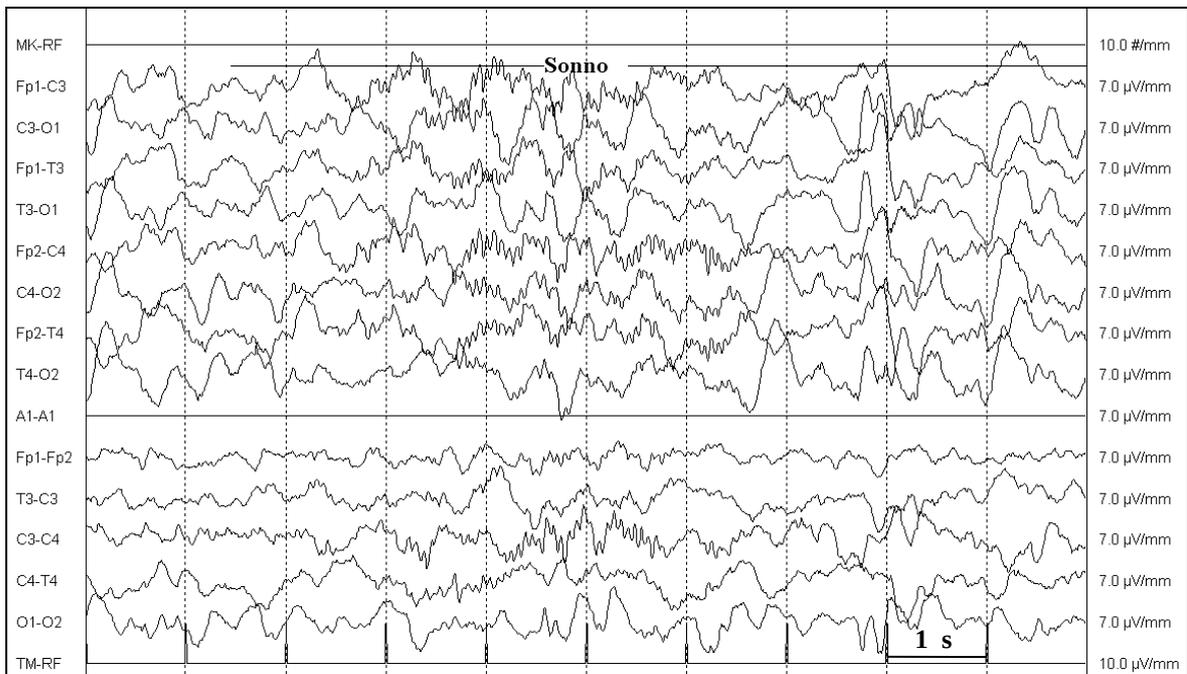


Figura 6.2. EEG intercritico in sonno fase seconda all'età di 4 mesi (sensibilità 7 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 30 mm/sec). Vedi testo. (per gentile concessione dr.ssa Di Rosa, NPI Messina).

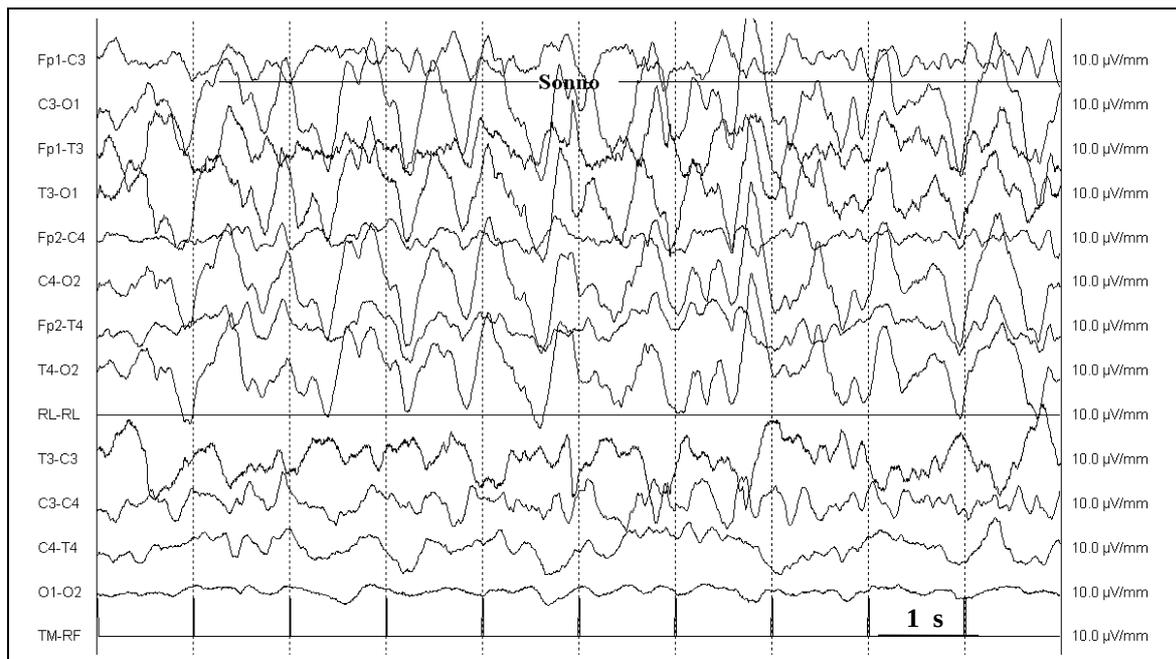


Figura 6.3. EEG in sonno all'età di 10 mesi e mezzo (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 30 mm/sec): tracciato EEG di sonno lento, caratterizzato da attività delta ampia e diffusa, monomorfa, prevalente sulle regioni posteriori di entrambi gli emisferi, con scarsa rappresentazione delle spindles e dei complessi K (qui non visibili). (per gentile concessione dr.ssa Di Rosa, NPI Messina)

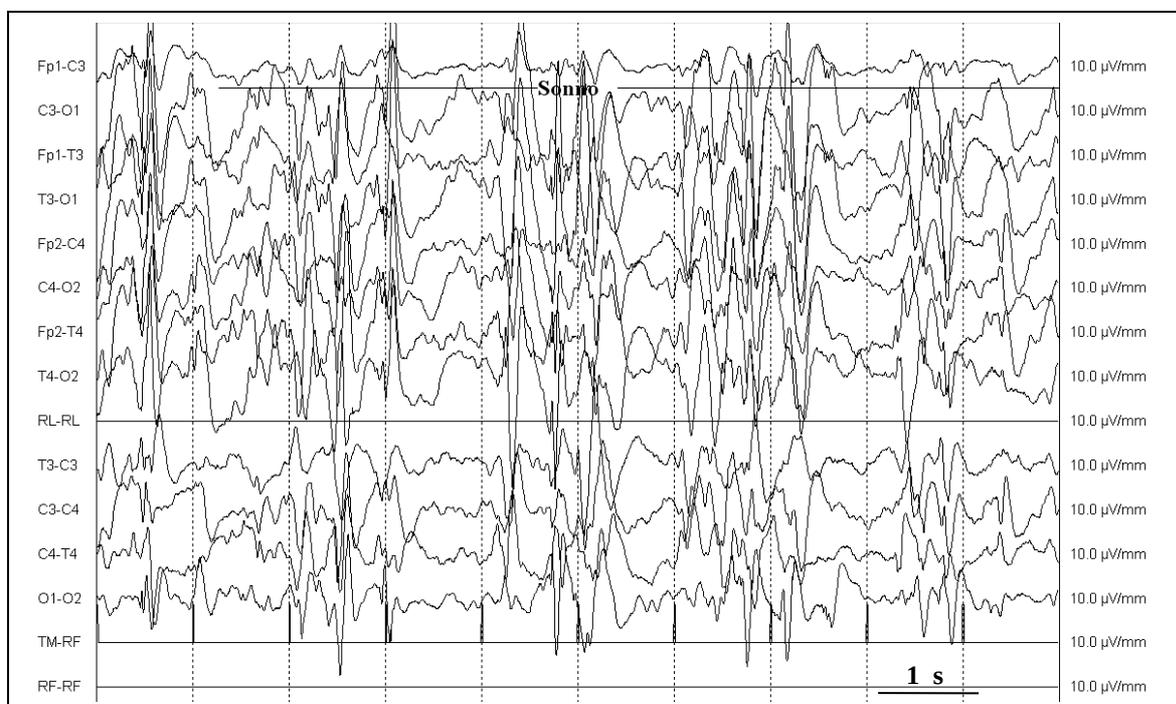


Figura 6.4. EEG in sonno a 19 mesi (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 30 mm/sec): attività elettrica scarsamente organizzata e rallentata con subcontinui burst bilaterali di onde aguzze, punte, polipunte di ampio voltaggio, con tendenza alla sincronizzazione e frammentazione. (per gentile concessione dr.ssa Di Rosa, NPI Messina)

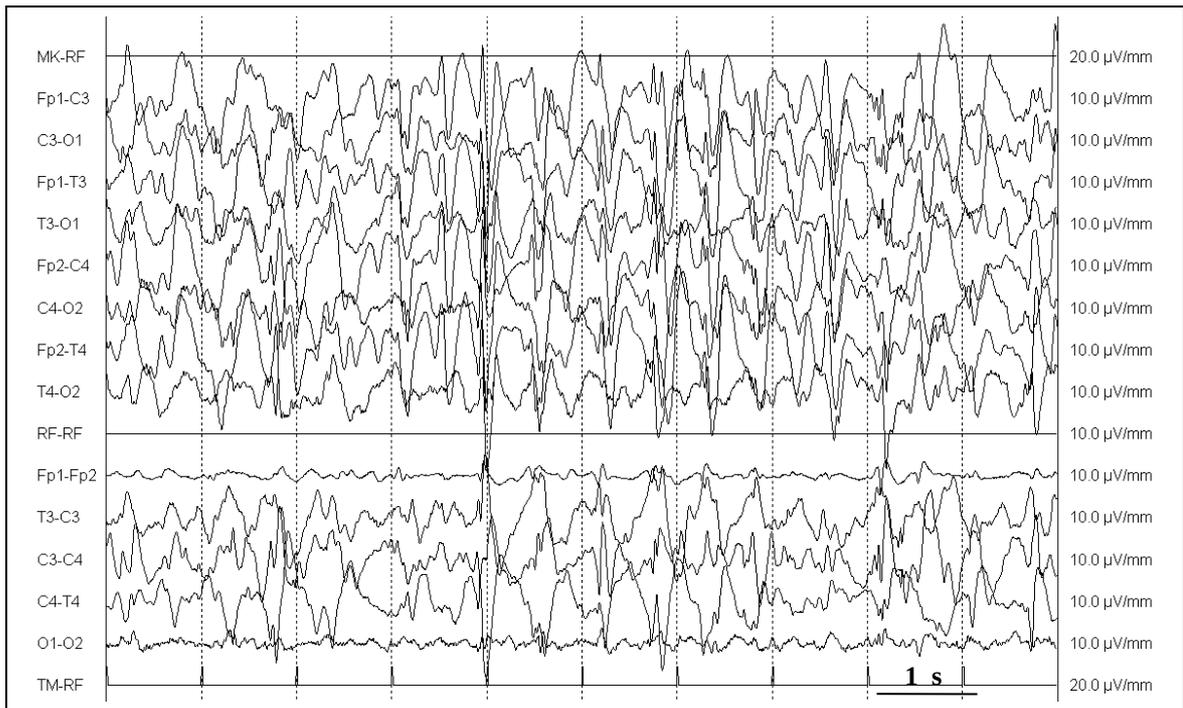


Figura 6.5. EEG intercritico in veglia all'età di 9 anni e mezzo (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 30 mm/sec): attività delta continua di ampio voltaggio con sovrapposti subcontinui parossismi a tipo onda aguzza, punta, e raramente polipunta, prevalenti sulle regioni centrali, con tendenza alla sincronizzazione e talora con andamento pseudo periodico (non mostrato). (per gentile concessione dr.ssa Di Rosa, Messina)

ICONOGRAFIA: *Paziente 7*

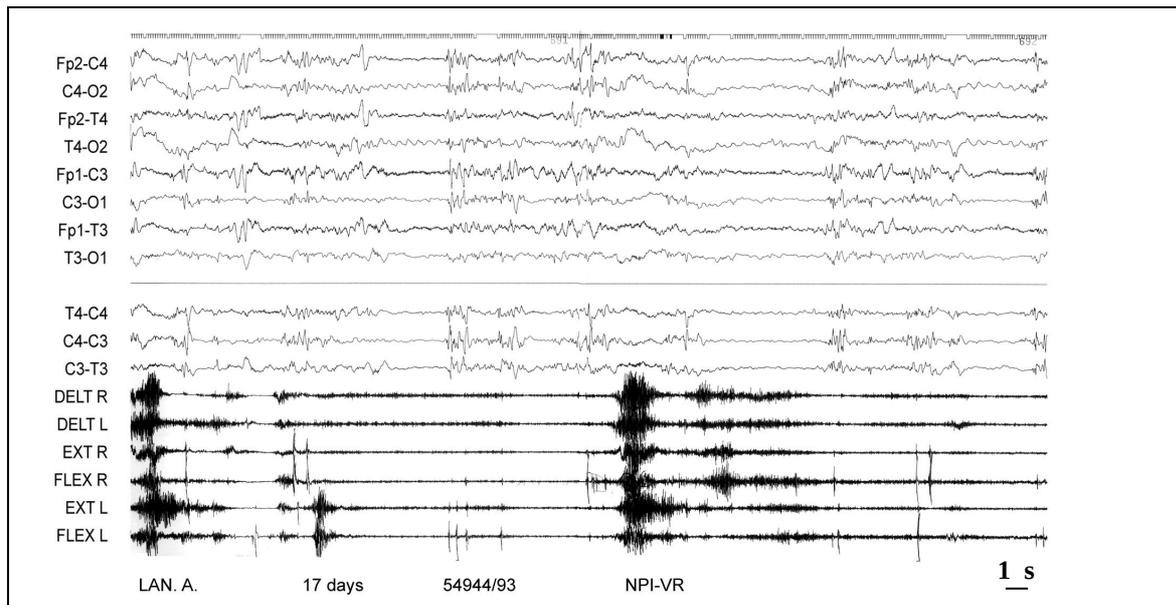


Figura 7.1. EEG-poligrafia all'età di 16 giorni di vita: pattern discontinuo tipo suppression burst. Sono evidenti alla poligrafia spasmi e mioclonie nei diversi distretti muscolari esplorati, isolate o in brevi serie. (per gentile concessione dr.ssa Darra, NPI Verona)

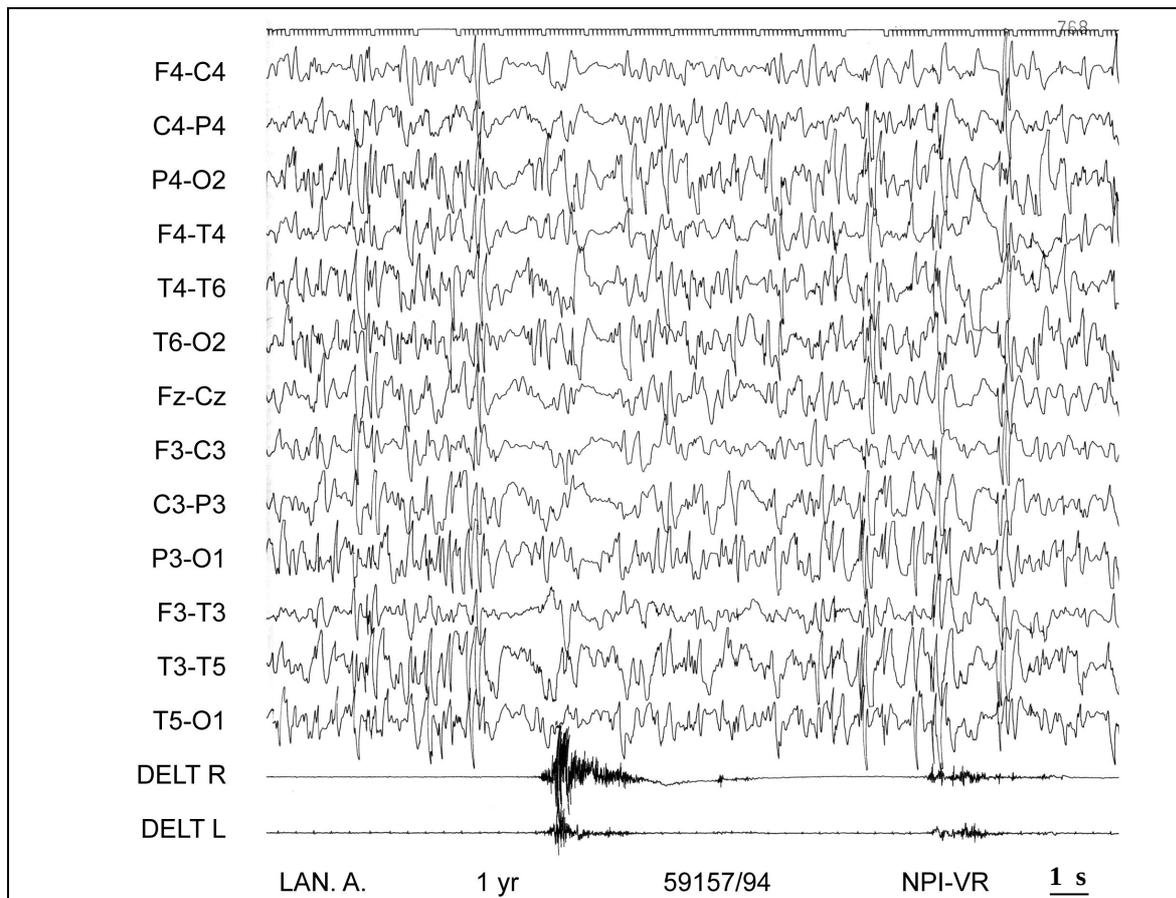


Figura 7.2 EEG all'età di un anno: si noti la presenza di anomalie multifocali a tipo di Punta-Onda e Poli Punta-Onda asincrone sui due emisferi con tendenza alla diffusione. (per gentile concessione dr.ssa Darra, NPI Verona)

ICONOGRAFIA: Paziente 8

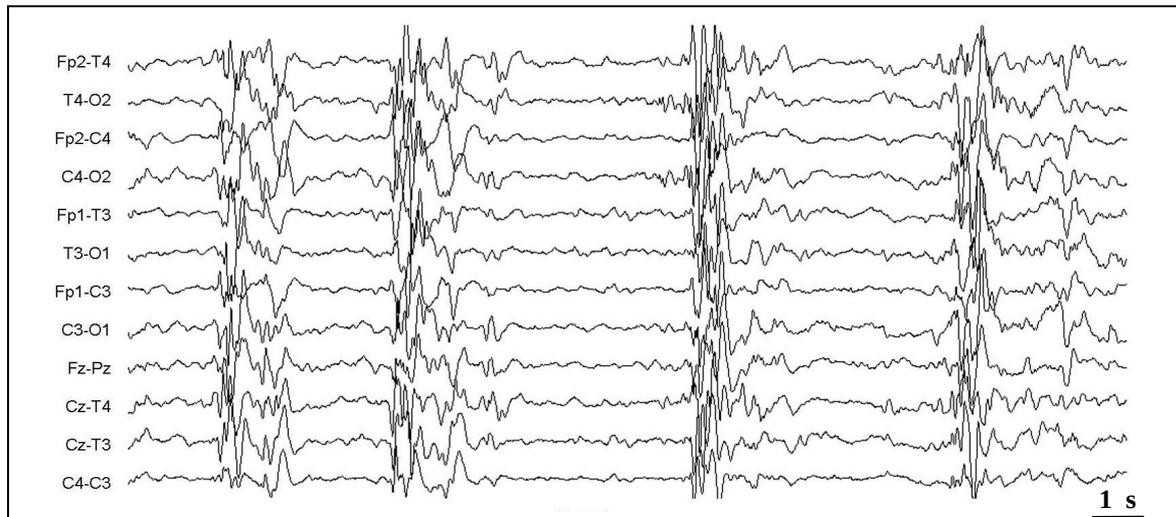


Figura 8.1. EEG all'età di 20 giorni (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): suppression burst pattern. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

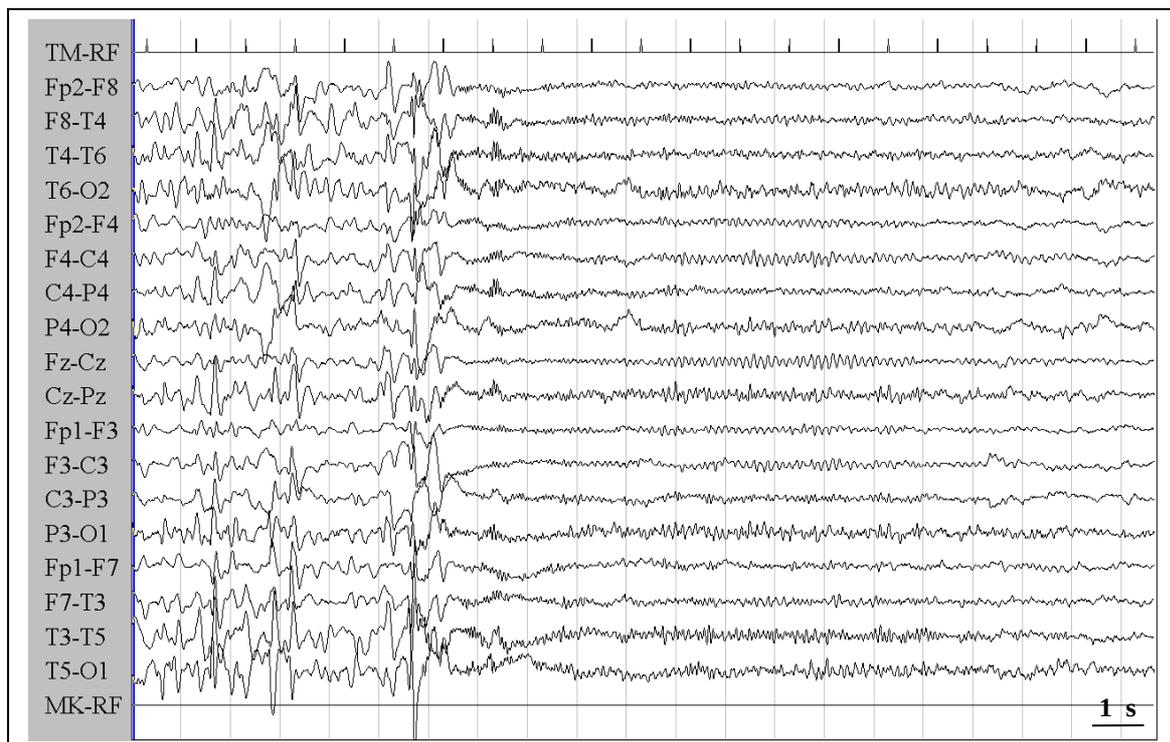


Figura 8.2. EEG all'età di 2 anni (crisi) (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): sequenza di attività rapida di basso voltaggio diffusa a voltaggio crescente e frequenza decrescente. Clinicamente si segnala ipertono diffuso. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

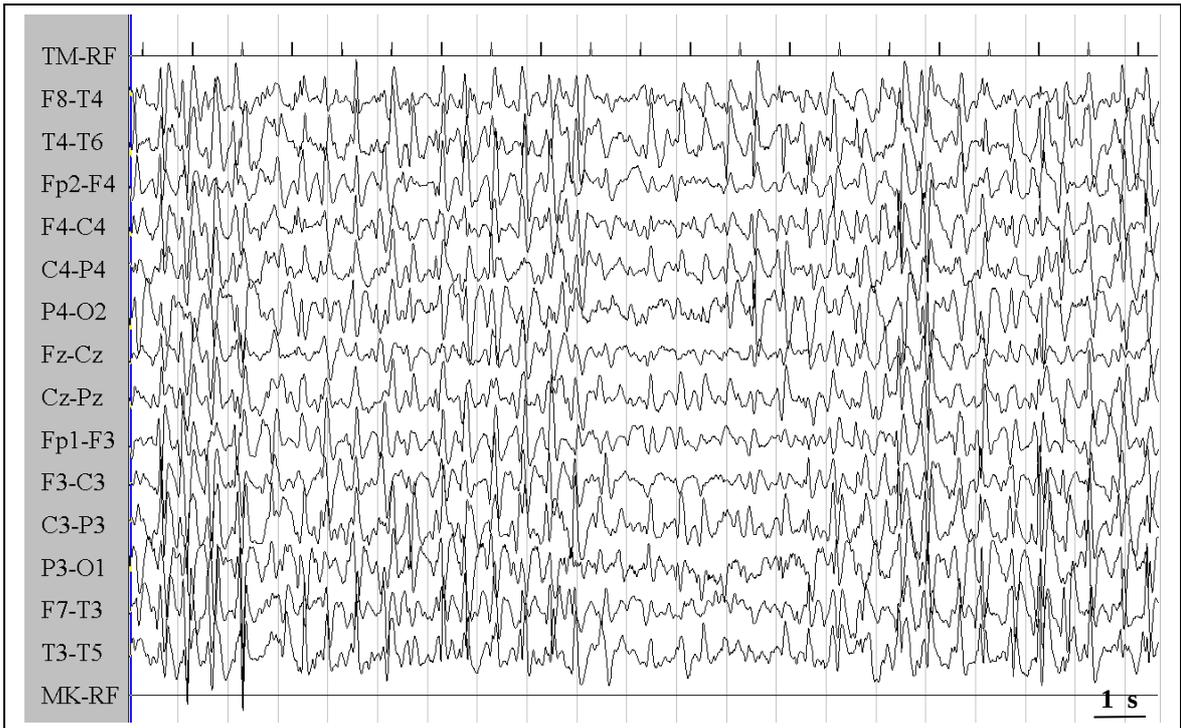


Figura 8.3. EEG all'età di 1 anno (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): complessi punta-onda lenta bilaterali subcontinui di ampio voltaggio. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

ICONOGRAFIA: Paziente 9

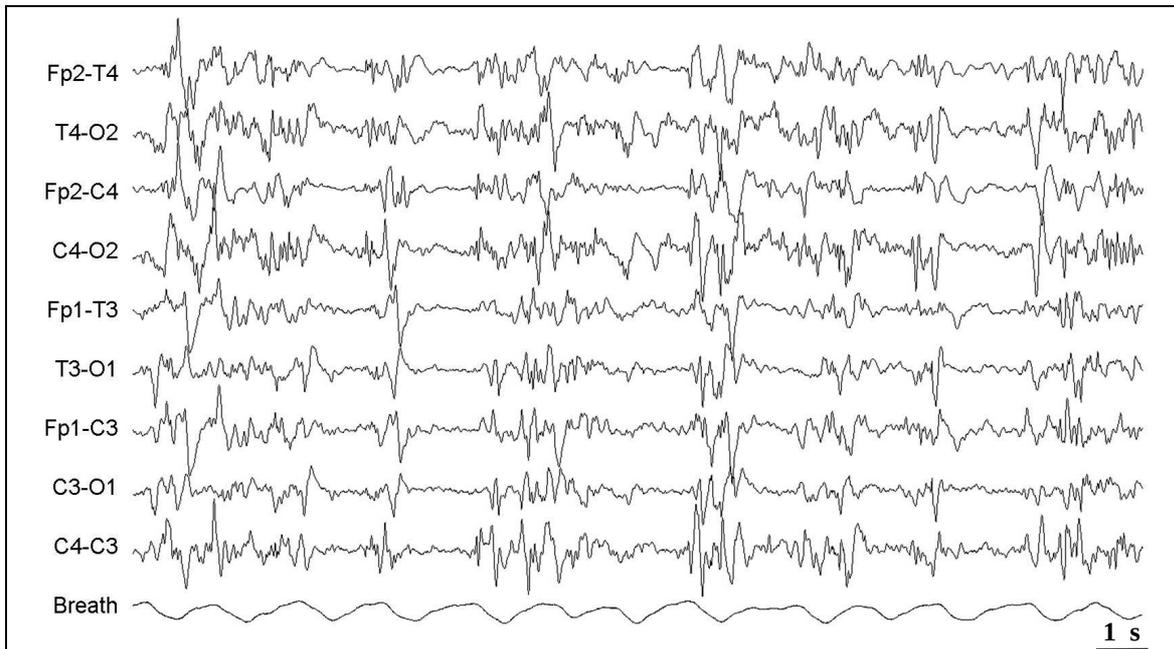


Figura 9.1. EEG all'età di una settimana (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): suppression burst pattern. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

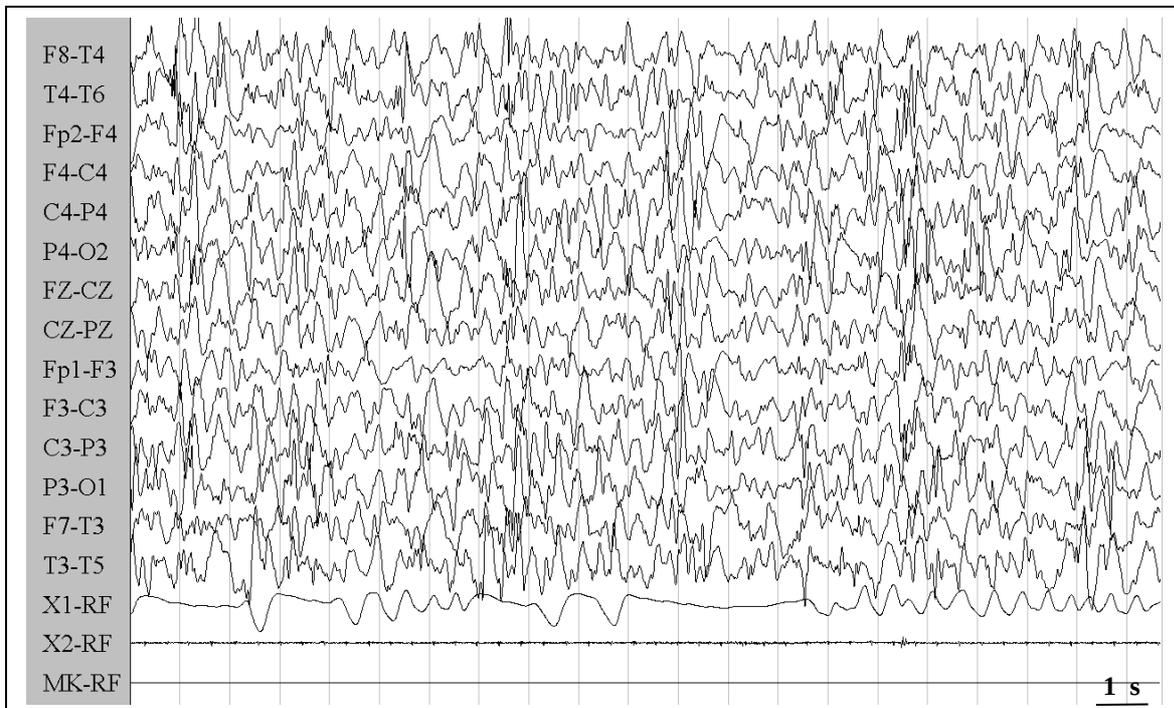


Figura 9.2. EEG all'età di circa 1 anno (sensibilità 10 μ V/mm; velocità di scorrimento 15 mm/sec): Onde delta di ampio voltaggio frammentate ad anomalie multifocali ampie a tipo punta e polipunta. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

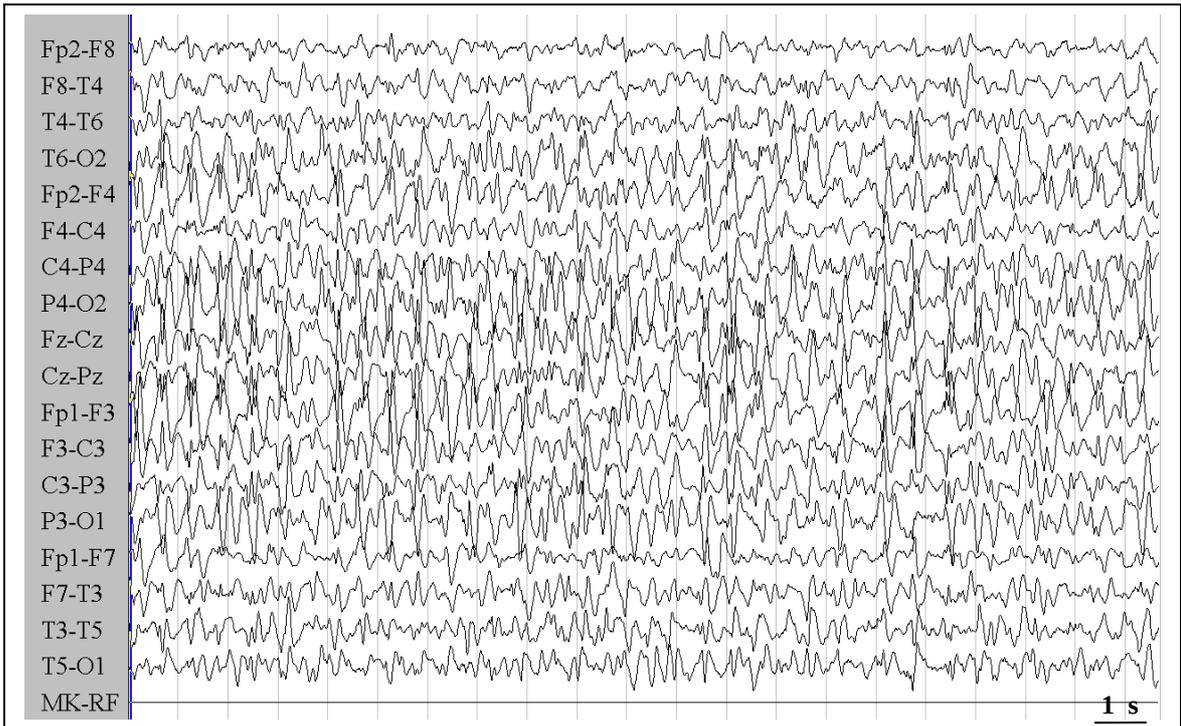


Figura 9.3 EEG all'età di 3 ½ anni (sensibilità 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$; velocità di scorrimento 15 mm/sec): si noti la presenza di anomalie subcontinue a tipo complessi punta-onda lenti bilaterali, prevalenti a livello delle derivazioni longitudinali interne. (per gentile concessione dr. Giordano, NPI Brescia)

SCHEMA RACCOLTA DATI: ENCEFALOPATIE EPILETTICHE

Data _____

Medico _____

Cognome _____	Nome _____	
Nato a: _____	Prov. () _____	Data: ____ / ____ / ____
Indirizzo _____		cap _____
Telefono _____	/	cell _____
Medico curante: _____		
Centro di riferimento: _____		

ANAMNESI FAMILIARE

Albero genealogico

Genitori consanguinei no si _____

Familiari affetti da:

- epilessia no si _____

- convulsioni febbrili no si _____

- ritardo mentale no si _____

- sindromi distoniche no si _____

- anomalie dei genitali no si _____

- malformazioni cerebrali no si _____

- spasticità/PCI no si _____

- malattie neurologiche no si _____

- malattie psichiatriche no si _____

ANAMNESI FISIOLÓGICA

1) Gravidanza normale patologica _____

2) Perinatalità normale patologica _____

PN _____(%ile) L _____(%ile) CC _____(%ile)

3) Sviluppo psicomotorio nel primo anno di vita

- patologico ab initio
- arresto all'età _____
- regressione all'età _____

4) Progressione dopo il I anno di vita:

-motoria normale patologica _____

-linguaggio verbale normale patologica _____

-cognitiva normale patologica _____

-comportamentale normale patologica _____

Autonomia personale: _____

Socializzazione: _____

Scolarizzazione: _____

ANAMNESI PATOLOGICA

Anamnesi patologica remota (neurologica)

Esordio del problema neurologico:

neonato 2-12 mesi 1-3 anni 4-6 anni \geq 7 anni

Problema presentato:

crisi epilettiche

ritardo PM: _

arresto e/o regressione _

altro: _____

Esame obiettivo all'esordio (dati significativi):

Esame neurologico all'esordio:

- Compromissione relazione: _____.
- Tratti di chiusura: _____.
- Stereotipie : _____.
- Deficit cognitivo (specificare il livello o il grado) : _____.
- Compromissione del linguaggio: _____.
- Best Performance motoria : _____.
- S. piramidali: _____.
- S. Extrapiramidali : _____.
- S. Cerebellari : _____.
- Compromissione specifica dei nervi cranici : _____.

Epilessia (all'esordio)

- 1) età esordio: _
- 2) crisi: monomorfe polimorfe

Crisi tipo 1:

-semeiologia:

-frequenza:

Crisi tipo 2:

-semeiologia:

-frequenza:

Altre crisi:

-semeiologia:

-frequenza:

- 3) EEG all'esordio:

a) intercritico

normale:

patologico:

ipsaritmico

encefalopatico non ipsaritmico

- b) critico
 - tipo 1
 - tipo 2
 - altre crisi

Visite ed accertamenti eseguiti

Visite	Data	Referto
Oculistica		
ORL		
Dermatologica		
Genetica		
Pediatrica		
Esami		
TAC		
RMN		
Cariotipo		
Metabolici		
Radiografie		
EMG		
Potenziali Evocati		
Altri esami genetici		

Terapia farmacologica all'esordio (specificare, se possibile, dose max raggiunta mg/kg, livello, durata, efficacia)

vitamina B 6:

VGB:

idrocortisone:

VPA:

BDZ:

ACTH:

TPR:

altro

DECORSO EPILESSIA

Crisi tipo 1: _____

- eta' scomparsa

- se persistenti, frequenza:

- EEG intercritico

normale:

patologico

ipsaritmico

encefalopatico non ipsaritmico

altro

Crisi tipo 2:

- eta' scomparsa

- se persistenti, frequenza:

- EEG intercritico

normale:

patologico

ipsaritmico

encefalopatico non ipsaritmico

altro

Altre crisi

- eta' scomparsa

- se persistenti, frequenza:

- EEG intercritico

normale:

patologico

ipsaritmico

encefalopatico non ipsaritmico

altro



ESAME OBIETTIVO (il piu' recente)

PC (kg) _____(____%ile) H (cm) _____(____%ile) CC (cm) _____(____%ile)

Dismorfismi: no si _____

Discromie cute: no si _____

Anomalie apparato urogenitale: no si _____

ESAME NEUROLOGICO (il piu' recente)

Compromissione relazione: _____.

Tratti di chiusura: _____.

Stereotipie : _____.

Deficit cognitivo (specificare il livello o il grado) :

Compromissione del linguaggio:

Best Performance motoria : _____.

S. piramidali: _____.

S. Extrapiramidali: _____.

S. Cerebellari : _____.

Compromissione specifica dei nervi cranici : _____.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio per la preziosa supervisione la dr.ssa Clementina Boniver, la dr.ssa Alessandra Murgia, la prof.ssa Anna Maria Laverda ed il prof. Giorgio Perilongo.

Ringrazio inoltre medici e biologici che hanno contribuito alla realizzazione di questo lavoro: dr.ssa Patrizia Accorsi, dr. Wainer Andreoli, prof. Pier Antonio Battistella, dr.ssa Elisa Bettella, prof. Bernardo Dalla Bernardina, dr.ssa Francesca Darra, dr. Luca De Palma, dr.ssa Gabriella Di Rosa, prof.ssa Paola Drigo, dr.ssa Elena Fontana, dr. Lucio Giordano, dr.ssa Roberta Polli, dr.ssa Sara Rossato, dr. Maurizio Scarpa, dr.ssa Agnese Suppiej, dr.ssa Alessandra Tiberti, dr.ssa Irene Toldo, prof. Gaetano Tortorella, dr.ssa Marilena Vecchi, dr.ssa Nelia Zamponi.

Un ringraziamento infine a tutti i bambini descritti ed alle loro famiglie per la disponibilità e la collaborazione.