

Metodologia clinica nello studio della genetica delle epilessie

*New knowledge and methodology for the study of the genetics
of epilepsy*

A. BIANCHI

*Responsabile Commissione Genetica Lega Italiana contro l'Epilessia, Centro Epilessia,
U.O. Neurologia, Ospedale "San Donato", USL 8, Arezzo*

PAROLE CHIAVE. — Epilessia - Genetica - Familiarità

KEY WORDS. — *Clinical genetics and epilepsy - Twins and epilepsy - Family studies and epilepsy*

*Per invito
Invited article*

Summary

The epilepsies are a group of syndromes with different etiology, clinical characteristics and prognosis. The idiopathic syndromes and some rare symptomatic generalized forms have a probable or sure genetic etiology. The first strategy aimed to define and characterize the genetic etiology is twin study, where we can observe a greater concordance in monozygotic vs. dizygotic twins, above all in the idiopathic forms. EEG studies have shown a clear familial prevalence of some familial focal or generalized epileptiform traits. Nevertheless, this technique has shown severe limits, in particular due to the age-dependence of the EEG trait, so its use as a genetic marker has been greatly limited. Familial population studies have allowed to understand and estimate the risk that a newborn has of developing a form of epilepsy when there is a relative affected in the family. These works have shown the genetic complexity of epilepsies and the need to single out families with more affected cases suitable for molecular genetic studies. It is useful that in every affected case the phenotype is carefully described and that the pedigree is collected according a rigorous methodology, without forgetting ethic implications. The use of large collections of families with more than one affected case have shown that there is a concordance for the same clinical form only in 25% of cases, while in the others there are more than one clinical form of epilepsy

and that the syndromic concordance is greater in first degree relatives, while in lesser degree relatives we can observe different clinical forms, febrile seizures included, which is the expression of a familial susceptibility for a non specific type of seizures. In particular, the study of families with several affected cases has shown the genetic autonomy of the absences towards myoclonic seizures. The singling out of large informative families has led to the description of new rare syndromic forms like Benign familial infantile seizures, Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy, Familial focal epilepsy with variable foci, Familial temporal lobe epilepsy, Generalized epilepsy with febrile seizures plus and Benign adult familial myoclonic epilepsy. On the contrary, in the more common generalized idiopathic forms it is very unlikely to find large mendelian families, while more frequently we have sporadic cases or small families with only few affected cases.

In idiopathic syndromes, with the exception of rare forms with a mainly autosomal dominant mendelian inheritance, we found a mendelian transmission of a complex type. On the basis of these familial studies we can now affirm that the different idiopathic forms are determined by a few genes (oligogenic complex inheritance), and not by several genes or environmental factors (polygenic and/or multifactorial inheritance).

Introduzione

Le epilessie sono un gruppo di sindromi eterogenee sia sul piano clinico che sul piano eziologico. È nota da tempo l'importanza non solo di fattori lesionali cerebrali, ma anche di una predisposizione familiare nel determinare l'insorgenza di crisi epilettiche. Ippocrate affermava nel 400 a.C.: "Essa ha origine, come anche le altre malattie, dall'ereditarietà ... infatti se fosse una malattia più divina delle altre dovrebbe colpire tutti allo stesso modo, senza distinguere i flegmatici dai biliosi".

Le epilessie comprendono sindromi diverse per caratteristiche cliniche e prognostiche¹³. Dal punto di vista eziologico si classificano in forme sintomatiche, nelle quali i fattori acquisiti sono conosciuti, in forme criptogeniche, dove non si individua una lesione anche se essa appare presumibile, ed in forme idiopatiche, nelle quali non vi sono lesioni cerebrali né segni o sintomi neurologici ed assume importanza solo la predisposizione familiare. Nel gruppo delle epilessie idiopatiche, che rappresenta circa il 30% di tutte le epilessie, il fattore genetico assume quindi valore eziologico primario nel determinare la sindrome, ma non dobbiamo dimenticare che anche tra le epilessie sintomatiche esiste un gruppo più raro di malattie ad eziologia genetica e con modalità di trasmissione mendeliana che causano lesioni cerebrali progressive, con associata epilessia, quali le epilessie miocloniche progressive e le malattie neurocutanee.

La individuazione della eziologia genetica nelle epilessie

Le epilessie idiopatiche che riconoscono un presumibile fattore di predisposizione genetica si caratterizzano, oltre che per una notevole variabilità fenotipica, anche per modalità di trasmissione complessa e infatti solo per rare forme, quali le convulsioni neonatali benigne familiari, riscontriamo una trasmissione mendeliana. La prima strategia metodologica che si utilizza per confermare o meno la eziologia genetica di una malattia è lo studio dei gemelli. Al contempo è apparsa subito evidente l'importanza di considerare negli studi genetici l'analisi e la valutazione dei tratti EEG parossistici e di valutare il rischio familiare a sviluppare un nuovo caso di epilessia, sia per definire le modalità di trasmissione della malattia, sia come ausilio nella consulenza genetica.

Studi sui gemelli

Lo studio sui gemelli rappresenta un potente strumento per analizzare le patologie con genetica complessa come l'epilessia e per valutare le differenze genetiche tra le diverse sindromi. La nascita gemellare non rappresenta un maggior rischio a sviluppare crisi⁵, non modifica la prognosi sindromica²⁹ e pertanto il modello dei gemelli con epilessia può essere applicabile alla popolazione non gemellare. Fin dagli anni '50 W.G. Lennox e M.A. Lennox³⁰ avevano segnalato nella loro serie di gemelli una netta prevalenza della concordanza per epilessia nei gemelli monozigoti (62%) rispetto ai gemelli dizigoti (15%). Negli anni successivi diverse casistiche di gemelli hanno confermato lo stesso andamento, anche se con percentuali diverse, a seconda che la serie di gemelli sia stata raccolta basandosi su casistiche cliniche ospedaliere o su registri gemellari nazionali o di comunità^{8 14 27 31 34 42 43 45}. La Tabella I mostra infatti che, pur con percentuali differenti, vi è una netta prevalente concordanza nei gemelli monozigoti per epilessia e per convulsioni febbrili rispetto ai gemelli dizigoti. Questi modelli di casistica raccolte hanno ambedue delle carenze metodologiche ed infatti nelle casistiche cliniche ospedaliere vi è sicuramente una migliore attenzione al fenotipo sindromico, ma la raccolta è viziata in quanto elettiva e selezionata, mentre al contrario le raccolte dai registri sono metodologicamente più corrette ma la carenza di dati clinici è tale da sottostimare il fenomeno. In ogni caso l'andamento clinico è omogeneo nelle diverse casistiche e conferma l'importanza del fattore genetico nelle epilessie idiopatiche.

Un ulteriore passaggio logico è stato quello di valutare se vi fossero differenze nella concordanza valutando le diverse forme sindromiche epilettiche. W.G. Lennox e M.A. Lennox³⁰ trovano nella loro casistica, classificata secondo lo schema di F.A. Gibbs, una più alta concordanza nelle epilessie con crisi di "Grande Male" (82% monozigoti vs. 15% dizigoti) e di "Piccolo Male" (75% monozigoti vs. 0% dizigoti) rispetto alle epilessie con crisi "psicomotorie" (39% monozigoti vs. 5% dizigoti) ed alle epilessie "con lesione dell'encefalo" (27%

Tab. I. Studi sui gemelli con epilessia.

Autori	Tipo di crisi	Casi N	Monozigoti %	Concordanza Dizigoti %
<i>Casistiche cliniche ospedaliere</i>				
Lennox e Lennox (1960)	Tutte le forme 'Grande Male' 'Piccolo Male' 'Psicomotorio' Focale con lesione	225 103 24 42 104	62 82 75 39 27	15 15 0 5 13
Inouye (1960)	Tutte le forme	40	54	7
Berkovic et al. (1998)	Tutte le forme Ep Generalizzate Ep Parziali	225 59 65	62 82 36	18 26 5
Lennox-Buchthal (1973)	Convulsioni febbrili	65	68	13
Tsuboi e Endo (1991)	Convulsioni febbrili	46	69	20
Berkovic et al. (1998)	Convulsioni febbrili	82	58	14
<i>Casistiche da Registri Nazionali o di Comunità</i>				
Corey et al. (1991)	Tutte le forme	280	19	7
Sillanpaa et al. (1991)	Tutte le forme	188	10	5
Miller et al. (1999)	Tutte le forme	235	30	13
Schiottz-Christensen (1972)	Convulsioni febbrili	64	31	7
Corey et al. (1991)	Convulsioni febbrili	252	33	11
Miller et al. (1999)	Convulsioni febbrili	133	39	12

monozigoti vs. 13% dizigoti). Lo stesso andamento viene confermato da Berkovic et al.⁸ che nella loro casistica di 253 gemelli trovano una più alta concordanza nelle epilessie generalizzate (82% monozigoti rispetto a 26% dizigoti) sia nelle forme idiopatiche che in quelle sintomatiche rispetto alle epilessie parziali (36% monozigoti rispetto a 5% dizigoti). Va tuttavia evidenziato che a fronte di una più alta concordanza nelle forme parziali idiopatiche e criptogeniche, non si riscontra alcuna concordanza sindromica nelle forme focali sintomatiche.

L'analisi di questi studi permette di concludere che i fattori genetici hanno una particolare importanza nelle epilessie idiopatiche sia generalizzate che parziali ed inoltre la peculiare alta concordanza nelle maggiori sindromi idiopatiche fa presupporre l'esistenza di determinanti genetiche sindromi-specifiche, piuttosto che una generica predisposizione alle crisi.

Anche nelle convulsioni febbrili si conferma un più alto tasso di concordanza nei gemelli monozigoti (da 68% a 58%) rispetto ai dizigoti (da 18% a 13%) a seconda delle diverse modalità di raccolta dei casi confermando l'importanza del ruolo della genetica in questa speciale sindrome^{8-14 34 42}.

I gemelli monozigoti possono inoltre rappresentare un utile modello per meglio definire e talora confermare l'autonomia sindromica di nuove sottoforme cliniche. Come esempio ricordo le segnalazioni di Berkovic et al. per l'epilessia familiare del lobo temporale⁶ e di Bianchi et al. per l'epilessia con mioclonie palpebrali con assenze⁹.

Un ulteriore dato interessante è fornito dall'analisi dei gemelli discordanti per forma clinica, per valutare l'importanza dei fattori ambientali nel determinismo delle sindromi. Oltre i casi segnalati con fattori lesionali acquisiti secondari, la maggiore attenzione si è rivolta ai casi discordanti con epilessia e malformazione corticali. La discussione è tuttora aperta e vengono ipotizzati fattori acquisiti occulti prenatali o fattori genetici successivi alla fecondazione o la presenza di un diverso mosaicismi somatico¹².

Studi sull'Elettroencefalogramma

L'Elettroencefalogramma (EEG) è uno strumento diagnostico indispensabile nelle epilessie e la presenza di peculiari figure patologiche in veglia o in sonno caratterizza sul piano nosografico molte sindromi idiopatiche sia generalizzate che parziali.

Considerata l'importanza di tale diagnostica e la relativa facilità di esecuzione non sorprende che, fin dai primi studi, tale tecnica è stata utilizzata per determinare la presenza di tratti patologici nei parenti degli affetti, con la speranza di utilizzarla come marker genetico neurofisiologico.

Gli studi sui gemelli dei Lennox avevano già evidenziato che alcuni tratti EEG parossistici erano maggiormente concordanti nei gemelli monozigoti rispetto ai dizigoti, confermandone la base genetica. I tratti EEG parossistici, oggetto degli studi più interessanti, sono stati il tratto generalizzato bilaterale e sin-

crono di punta-onda, suddiviso nel tratto tipico di punta-onda a 3 Hz e nel tratto di punta onda irregolare e di polipunta-onda, la risposta fotoparossistica e le punte centro-temporali o rolandiche. Al contrario i pattern EEG anormali non specifici quali il theta ritmico parietale ed il ritmo delta posteriore non hanno mostrato una chiara caratterizzazione genetica familiare.

K. Metrakos e J.D. Metrakos³³ hanno evidenziato la presenza di un tratto punta-onda regolare o irregolare nel 35% circa dei fratelli (223 casi), con maggiore evidenza intorno ai 6-10 anni, e nel 10% circa dei genitori (195 casi) di probandi con epilessia "centroencefalica". Tale dato faceva concludere ai Metrakos che il tratto generalizzato è dovuto ad un gene dominante con penetranza età-dipendente. Successivi studi in particolare di Gerken e Doose²⁰ e di R. Degen e H.E. Degen¹⁵ hanno sostanzialmente confermato questo andamento familiare. Questo dato si confronta con la presenza, negli EEG in veglia, di un tratto generalizzato di punta-onda nella popolazione generale dello 0,3-1,8% con un picco di prevalenza intorno ai 6-8 anni¹⁸.

Gli studi sul tratto fotoparossistico generalizzato sono molto disomogenei per casistica, tipologia del tratto e variabilità tecnica. Doose et al.¹⁶ trovano la presenza di una risposta fotoparossistica nel 16% dei fratelli di probandi con tratto omogeneo rispetto al 5% dei soggetti di controllo normali e si conferma una età-dipendenza del tratto, con massima prevalenza intorno agli 11-12 anni. La fotosensibilità è inoltre presente nel 10-20% dei fratelli di probandi con epilessia che non mostravano un tratto fotoparossistico.

Il tratto centro-temporale patognomnico della epilessia parziale benigna "rolandica" è presente nel 35% dei fratelli e nel 3-20% dei genitori dei probandi affetti. Inoltre in circa il 15% dei fratelli osserviamo altri tratti EEG parossistici, inclusa una attività generalizzata di punta-onda. Punte focali rolandiche si osservano nell'1-3% dei bambini normali. Questo tratto può essere compatibile sia con un modello di trasmissione dominante che con un modello poligenico^{17 25}.

Gli studi sull'EEG hanno evidenziato che la valutazione di questo esame come marker genetico ha notevoli limiti legati alla età dipendenza dei diversi tratti che di fatto ne impedisce la utilizzazione nell'età adulta, alla variabilità intraindividuale sia circadiana che nel corso degli anni, al fatto che un solo esame, come descritto nei diversi studi, non può essere probativo della presenza o meno di un tratto, alla difficile valutazione dei tratti parossistici non tipici ed alla diversità tecnica di esecuzione dell'esame.

Questi limiti hanno determinato uno scarso attuale interesse per questi studi anche se le informazioni che ne sono derivate sono state preziose per comprendere le caratteristiche e le modalità di trasmissione genetica familiare. In particolare la valutazione del tratto EEG è importante e necessaria, pur con i limiti espressi, nella raccolta delle famiglie con più casi affetti e negli studi di analisi molecolare dove vengono considerati non solo gli affetti con il fenotipo clinico allo studio, ma anche i soggetti con presenza di solo tratto EEG parossistico.

Studi familiari di popolazione e di casistica

Gli studi di popolazione ci hanno permesso di comprendere e di stimare la prevalenza generale del fattore genetico nelle epilessie e di valutare la percentuale di rischio che ha un nuovo nato a sviluppare una forma di epilessia quando vi è un affetto in famiglia (Tab. II).

Tra i diversi studi sull'argomento, che si caratterizzano per una notevole variabilità nel disegno e nella metodologia, una particolare attenzione va data ai lavori del *Comprehensive Epilepsy Program* del Minnesota sulla popolazione di *Rochester-Olmsted County*. Il rischio generale a sviluppare l'epilessia in tale popolazione è stato determinato nell'1,1%, mentre il rischio di presentazione di una crisi, comprese crisi febbrili, crisi isolate o crisi dovute ad un evento lesionale acuto, è stato del 4,1%²². Il rischio cumulativo a sviluppare una epilessia per un fratello od un figlio di un soggetto con epilessia, in modo combinato, è del 3,5%, mentre il rischio per un qualsiasi tipo di crisi è stato dell'11% per i fratelli e del 14% negli figli, rispetto al 4,1% della popolazione generale².

Questo aumento di rischio familiare, di circa tre volte rispetto alla popolazione generale, a sviluppare una epilessia o qualsiasi forma di crisi, si differenzia in modo anche significativo se consideriamo dei sottoparametri valutativi¹²⁴. Infatti il rischio relativo nei fratelli è del 3-5% se il probando ha meno di 15 anni e si riduce al 2-3% se è maggiore di 15 anni. Se il probando ha crisi parziali il rischio è del 2-3%, sale al 5-6% se l'affetto ha un tratto EEG generalizzato di complessi punta-onda e all'8% se ha anche una fotosensibilità. Se oltre il probando anche un genitore ha l'epilessia il rischio per i fratelli è dell'8% che sale al 12% se è presente un tratto EEG generalizzato. Se oltre al probando anche il fratello ha un tratto di punta-onda, per quest'ultimo il rischio di sviluppare una epilessia è del 15%.

Per un nuovo nato da un genitore con epilessia il rischio relativo è del 6%, ma vi è una notevole differenza nel rischio per i nati da madre con epilessia (8,7%) rispetto ai nati da padre con epilessia (2,4%). Al momento questa interessante osservazione relativa al sesso del genitore non ha una spiegazione genetica soddisfacente³⁵. Anche per i nati da genitori con epilessia vi è una sensibile differenza nel rischio in relazione alla presenza di crisi di assenza in uno dei genitori (9%) rispetto alle crisi parziali (2,7%). Se tuttavia il più alto rischio associato con l'epilessia con crisi di assenza è trattato separatamente, il rischio per le altre epilessie generalizzate è simile a quello per le epilessie parziali³⁶.

Le convulsioni febbrili³²³ vanno considerate separatamente per alcune peculiari caratteristiche. La loro prevalenza in Europa e negli Stati Uniti è del 2-4% sotto i 5 anni di età; il rischio nei fratelli e nei figli aumenta di circa tre volte, ma se uno dei genitori oltre il probando ha avuto convulsioni febbrili il rischio per il nuovo nato arriva al 22% e se entrambi i genitori hanno avuto convulsioni febbrili il rischio raggiunge il 56%. In questa forma vi sono differenze

Tab. II. Rischio cumulativo a sviluppare una epilessia nei parenti di un probando con epilessia.

	Rischio nei fratelli (%)	Rischio nei figli (%)
Rischio generale per crisi	11%	14%
Rischio generale per epilessia	3,5%	3,5%
<i>Età di inizio dell'epilessia</i>		
< 15 aa	3-5%	6%
> 15 aa	2-3%	2-3%
<i>Sesso</i>		
Madre con epilessia		8,7%
Padre con epilessia		2,4%
<i>Eziologia dell'epilessia</i>		
Sintomatica post-natale	1%	
Anossica con deficit neurologici	3%	
<i>Tipo di crisi</i>		
Parziale	2-3%	2,7%
Generalizzata (con tratto PO)	5-6%	3,3%
Generalizzata (con PO e fotosensibilità)	8%	
Assenze		9%
<i>Probando con epilessia</i>		
Con genitore affetto	8%	
Con genitore affetto con tratto PO	12%	
Con tratto PO anche nel fratello	15%	
<i>Rischio generale nella popolazione a sviluppare epilessia</i>		1,1%
<i>Rischio generale nella popolazione a presentare una crisi</i>		4,1%

in rapporto alla razza ed in Giappone dove troviamo una prevalenza nella popolazione intorno all'8% si segnala un rischio nei fratelli di un probando con convulsioni febbrili superiore al 20%.

Gli studi familiari su popolazione, pur se metodologicamente rigorosi, hanno il limite di basarsi prevalentemente su interviste dei probandi e di considerare le crisi epilettiche o l'epilessia in generale, senza differenziare i diversi gruppi sindromici.

In un recente lavoro¹¹ promosso dalla Lega Italiana Contro l'Epilessia- Progetto Episcreeen su di una casistica molto ampia di 10.787 probandi è stata riscontrata una storia familiare di epilessia nei parenti di primo grado (genitori, fratelli e figli) nel 9,1% dei casi, con un tasso di rischio generale del 2,6%. Analizzando i diversi gruppi sindromici troviamo una prevalenza nelle sindromi idiopatiche focali del 3,4% e nelle forme generalizzate del 5,3% (7,2% nei fratelli), mentre nelle forme sindromiche criptogeniche tale percentuale di rischio si riduce a 3,8% nelle generalizzate e all'1,8% nelle focali, confermando che in tale gruppo sindromico confluiscono casi con suscettibilità genetica e casi con eziologia lesionale non individuata. Nelle sindromi sintomatiche troviamo una prevalenza del solo 1,3% nelle forme focali, vicino al rischio della popolazione generale e del 2,0% nelle generalizzate dove conosciamo forme a eziologia genetica presunta o definita.

Il basso valore di rischio familiare riscontrato nelle epilessie focali sintomatiche rafforza precedenti segnalazioni della scuola di Rochester sul basso rischio familiare nelle diverse eziologie lesionali post-natali (vascolare, traumatico, infettivo e neoplastico) mentre, come prevedibile, si riscontra un più alto rischio nei casi con deficit neurologici alla nascita, dove è ragionevole ipotizzare un contributo della suscettibilità genetica oltre che della eziologia lesionale³⁸.

Gli studi che hanno analizzato la familiarità nelle singole forme sindromiche sono molto disomogenee per criteri diagnostici, per numero dei casi e per metodologia, anche considerando che il numero di parenti affetti nel primo grado è spesso un dato percentuale assoluto, senza un riferimento al numero totale dei parenti di primo grado e senza un aggiustamento per età dei familiari analizzati. Tuttavia vanno in particolare segnalati gli studi della scuola tedesca di Janz sulle epilessie idiopatiche generalizzate. Si osserva una percentuale di maggior rischio nei parenti di primo grado del 4,9% nelle epilessie con assenze dell'infanzia e giovanili, dove troviamo una percentuale di familiarità assoluta rispettivamente del 23,2 e 15,9% ed un tasso di rischio del 5,8% nella epilessia mioclonica giovanile, con valore assoluto di familiarità di 22,9%⁴.

Dalla Genetica clinica alla Genetica molecolare

Gli studi sui gemelli, sull'EEG e gli studi familiari ci hanno fornito utili acquisizioni sul valore del fattore eziologico genetico nelle sindromi idiopatiche, con particolare evidenza per alcune forme, l'importanza dei tratti EEG parossistici ed i diversi gradi di rischio per un nuovo nato con fratello o con genitore con epilessia. Tuttavia questi dati confermano che, con l'eccezione di

rare forme mendeliane, le sindromi epilettiche più comuni si caratterizzano per una trasmissione genetica complessa con i caratteri della trasmissione oligogenica, poligenica o multifattoriale. La complessità genetica di questa patologia rende necessaria la individuazione e la ricerca di famiglie con più casi affetti su più generazioni, in modo da permettere al genetista indagini di analisi molecolare finalizzate alla individuazione di una localizzazione cromosomica.

Il genetista clinico deve applicare una corretta metodologia nello studio del fenotipo, nella costruzione dell'albero genealogico e nell'analisi di una famiglia con epilessia, a prescindere dal numero dei casi affetti individuati.

Definizione del fenotipo

Considerata la notevole variabilità dei segni clinici anche all'interno della stessa sindrome, il primo passo negli studi genetici è rappresentato da una attenta definizione del fenotipo nel probando e negli altri membri affetti.

Il fenotipo con epilessia è principalmente definito da una attenta storia personale con specifica attenzione agli eventi lesionali pre-perinatali e post-natali che possano essere determinanti sul piano eziologico, dall'età di inizio delle crisi e soprattutto da una descrizione dettagliata, raccolta da chi ha assistito alle crisi, delle manifestazioni cliniche comprese tutte le caratteristiche utili sul piano diagnostico quali la durata, eventuali aure, fattori favorenti e momento circadiano. Inoltre va raccolta la frequenza delle crisi e l'andamento prognostico nel tempo anche in relazione alla risposta clinica alla terapia. È importante valutare la obiettività neurologica e cognitiva, la eventuale presenza di patologie mediche associate, in atto o nella storia pregressa, e tutti gli accertamenti diagnostici eseguiti, sia gli esami EEG che quelli di neuroimmagine (TC cranio o RM encefalo). La caratterizzazione del fenotipo con epilessia deve essere la più accurata possibile e, se necessario, vanno effettuati completamenti diagnostici, quale ad esempio un esame EEG in sonno.

Al momento della valutazione il probando può avere un buon controllo farmacologico delle crisi e pertanto può essere difficile ottenere una documentazione grafica o video-EEG delle crisi. In questi casi è necessario raccogliere la storia anche da chi nel passato ha potuto direttamente osservare gli episodi, recuperare la documentazione o interrogare i sanitari di riferimento quando l'epilessia era attiva. Se possibile nella storia andrebbe utilizzato un questionario standardizzato, oltre l'intervista clinica, in modo da ridurre la variabilità individuale dello specialista.

Gli altri membri affetti della famiglia devono essere studiati con le stesse modalità sopra descritte. Va ricordato che gli altri membri familiari non debbono necessariamente avere lo stesso fenotipo clinico del probando ed è necessario, anzi, che ogni membro della famiglia venga idealmente studiato *ex novo*, senza il condizionamento determinato dal fenotipo sindromico del probando.

Uno studio rigoroso dei diversi fenotipi ha infatti permesso, proprio attraverso lo studio di ampie famiglie, di definire nuove sindromi epilettiche, precedentemente non individuate nella classificazione internazionale quali la epilessia autosomica dominante notturna del lobo frontale e l'epilessia familiare del lobo temporale con crisi uditive.

Negli altri membri affetti è importante analizzare eventi lesionali che possono determinare la insorgenza di una epilessia focale sintomatica. Infatti questo membro affetto può rappresentare una mera fenocopia con epilessia, da non valutare nello studio genetico della famiglia sia per l'inquadramento sindromico che per l'analisi di *linkage*.

Dobbiamo ricordare che nello studio della famiglia un prezioso aiuto può essere fornito dall'esame EEG che va eseguito sia in veglia che in sonno e con le opportune prove di attivazione, non fermandosi se necessario ad una unica registrazione.

Costruzione del pedigree (Tab. III)

Il primo passo nel disegno di un albero genealogico è rappresentato dalla costruzione di un iniziale pedigree, partendo dai dati anamnestici del probando, dove venga chiaramente delineata la relazione nei due lati, paterno e materno, con gli altri membri affetti. I diversi membri devono essere delineati con la nota simbologia internazionalmente definita, che caratterizza ogni caso affetto o non affetto, il sesso, la posizione genealogica e condizioni particolari quali la gemellarità e l'aborto.

Sia il probando che gli altri membri affetti debbono essere studiati con criteri clinici rigorosi e dobbiamo ricordare che non è sufficiente considerare la sola storia epilettica. È necessario valutare negli altri membri della famiglia la presenza di altri episodi critici incluse le convulsioni febbrili, le crisi occasionali, gli episodi parossistici notturni, le crisi distoniche o coreatetosiche, la presenza di casi con ritardo mentale o della psicomotricità e anche la storia ostetrica familiare indicando eventuali aborti spontanei, nati morti o morti neonatali.

Per ogni membro del pedigree è opportuno conoscere il nome e la data di nascita, eventuali nuovi cognomi acquisiti per le donne in caso di matrimonio, la città e la nazione di nascita in particolare degli antenati e la presenza di consanguineità.

Dopo aver disegnato il primo albero genealogico il probando va incoraggiato a richiedere agli altri membri della famiglia la presenza o meno di altri casi affetti e soprattutto va consigliato di richiedere informazioni alle donne più anziane, quali le nonne o le bisnonne, che possono avere la memoria della famiglia, in particolare relativamente a crisi insorte nei primi giorni di vita. Ad ogni nuova visita l'albero genealogico va aggiornato con le nuove notizie e con i nuovi membri affetti individuati e naturalmente va aggiornato in caso di nuovi nati nella famiglia.

Tab. III. Linee guida per la costruzione di un albero genealogico.

-
- Nome e data di nascita degli individui
 - Città e nazione di nascita degli antenati
 - Consanguineità
 - Storia ostetrica (aborto spontaneo, nato morto, morte neonatale)
 - Ottenere informazioni riguardo ogni tipo di crisi (non solo relative all'epilessia) comprese convulsioni febbrili, crisi notturne e crisi parossistiche non definite
 - Chiedere al probando il permesso di acquisire dati clinici dagli altri membri della famiglia
 - Domandare i dati familiari ai membri più anziani della famiglia, in particolare alle donne
 - Richiedere i dati relativi alla familiarità in occasione di ogni successiva visita di controllo
 - Disegnare di nuovo l'albero genealogico quando vi sia un nuovo individuo affetto o sia nato un nuovo bambino
-

La definizione di una estesa famiglia con 4-5 membri affetti non deve far concludere lo studio. È necessario contattare tutte le branche che emergono dalla famiglia iniziale e questo può comportare la necessità di contattare centinaia di membri della famiglia e la individuazione di affetti in branche più lontane, dei quali i membri della prima famiglia allo studio non avevano alcuna conoscenza.

È facilmente intuibile la necessità che il clinico abbia una notevole attenzione e delicatezza nella costruzione dell'albero e deve essere capace a modificare l'atteggiamento, soprattutto nei membri più anziani, di nascondere i "segreti" della famiglia ed in particolare la preoccupazione di trasmettere la malattia alle generazioni più giovani. È necessario trasformare il probando in prezioso collaboratore nella ricerca familiare rendendolo consapevole che lo studio sulla propria famiglia può rappresentare un valore scientifico utile per le generazioni future.

Considerazioni etiche

È evidente che ogni passaggio dello studio familiare ha importanti implicazioni etiche che dobbiamo tenere sempre rigorosamente presenti²¹.

Ogni contatto con altri membri affetti della famiglia deve essere effettuato con il consenso del probando che deve personalmente richiedere loro la possibilità di essere direttamente contattati. Inoltre deve essere esplicitamente richiesto al probando l'autorizzazione a comunicare ai familiari coinvolti la patologia della quale è affetto. Deve essere necessario un consenso per effettuare accertamenti diagnostici specifici, quali l'esame EEG ai nuovi membri della famiglia esaminati. Nel caso di individuazione di famiglie molto estese con presenza di diverse branche di individui, ogni eventuale comunicazione o contatto tra i diversi membri familiari deve essere effettuata solo previo specifico consenso.

I dati clinici genetici devono essere protetti secondo le norme della legge sulla privacy e non deve essere possibile identificare, da parte di terzi, alcun individuo affetto nella Banca Dati informatizzata.

Il prelievo sanguigno per estrarre il materiale biologico da depositare nella Banca del DNA deve essere effettuato solo previo consenso informato scritto che deve contenere chiaramente le motivazioni scientifiche che possano giustificare l'effettuazione del prelievo e la conferma che negli eventuali risultati delle ricerche effettuate sia garantita la segretezza della identità del donatore.

Il consenso informato deve inoltre prevedere la possibilità di essere o meno informati sui risultati scientifici sia personali che complessivi della ricerca effettuata e la possibilità in ogni momento di poter revocare il proprio consenso e di poter distruggere il proprio materiale biologico depositato nella Banca.

Il consenso informato, approvato dal proprio Comitato Etico Locale, deve essere firmato dal soggetto adulto donatore ed in caso di minore da un genitore o da un tutore. È molto discussa e controversa la correttezza etica di effettuare il prelievo, pur con il consenso di un genitore, ad un minore che non fosse affetto dalla malattia, per le possibili implicazioni anche psicologiche che possano derivare dalla conoscenza dei risultati.

La concordanza sindromica e l'architettura genetica delle famiglie

La raccolta di famiglie con più membri affetti su una o più generazioni ha permesso di ricavare preziose informazioni sulla distribuzione del fenotipo con epilessia all'interno della stessa famiglia.

Un importante contributo su questo specifico aspetto è stato fornito dalla Lega Italiana Contro l'Epilessia con l'analisi di una casistica di famiglie con più casi affetti raccolte nella propria Banca Dati²⁸. In 72 famiglie con un probando affetto da una forma di epilessia idiopatica o da convulsione febbrile e con almeno tre altri casi affetti nella famiglia, per un totale di 296 membri con epilessia studiati, è stata osservata una completa concordanza per la stessa forma clinica solo nel 25% delle famiglie, nel restante 75% si osservava o una stessa forma clinica prevalente (14%) o due forme cliniche (36%) o tre forme cliniche (25%). Se si analizza la distribuzione delle forme cliniche nei parenti raccolti

nel pedigree rispetto al probando, è stata individuata una più alta concordanza per la stessa forma clinica nei parenti di primo grado, mentre nei relativi più distanti tendono a rappresentarsi fenotipi diversi, frequentemente con una caratterizzazione sindromica non specifica quali le convulsioni febbrili. Va segnalato in particolare la presenza di una scarsa associazione tra famiglie con assenze dell'infanzia e famiglie con epilessia mioclonica giovanile.

Un ulteriore successivo studio italiano sulla concordanza sindromica è stato effettuato su una casistica di 37 famiglie, con il probando affetto da una forma sindromica con assenze¹⁰. Si conferma una più alta concordanza per assenze nei parenti di primo grado (33,3%) delle famiglie con probando con assenze dell'infanzia, mentre è rara la presenza di casi con epilessia mioclonica giovanile. Nei parenti di secondo grado vi è al contrario una scarsa rappresentazione di casi con assenza (10%), mentre si osserva un prevalente fenotipo con convulsioni febbrili (46,7%).

Se consideriamo le famiglie con assenze e forme miocloniche (10 famiglie con epilessia con assenze palpebrali ed assenze, con epilessia mioclonica giovanile con assenze e con epilessia con assenze, mioclonie e crisi tonico-cloniche e fotosensibilità) troviamo una più alta concordanza nei parenti di primo grado per forme cliniche con crisi di mioclonia.

In accordo con queste osservazioni Winawer et al.⁴⁷ confermano nella loro casistica di 34 famiglie una influenza genetica distinta tra le crisi di assenza e le crisi miocloniche, suggerendo che questi due tipi di crisi, con le relative sindromi, devono essere raccolte separatamente per gli studi di analisi di *linkage*. Una ulteriore recente osservazione dello stesso gruppo⁴⁸ ipotizza che anche la presenza o meno di crisi tonico-cloniche all'interno delle sindromi generalizzate idiopatiche può avere una influenza genetica autonoma.

Marini et al.³² nella loro casistica di 55 famiglie con epilessie generalizzate idiopatiche riaffermano l'autonomia genetica tra le assenze e le mioclonie ed evidenziano in particolare una alta concordanza incrociata per l'epilessia con assenze dell'infanzia e l'epilessia con assenze giovanili concludendo che queste due forme si caratterizzano per un continuum sindromico, con una stretta relazione genetica. Anche in queste famiglie si ritrovano molti casi, più evidenti nei parenti più lontani, con convulsioni febbrili o con forme idiopatiche generalizzate con crisi tonico-cloniche non ben classificate, espressione di una suscettibilità familiare alle crisi non di tipo specifico.

La trasmissione genetica di queste famiglie con epilessia generalizzata idiopatica è del tipo complesso, ma compatibile più con modello oligogenico che con un modello poligenico o multifattoriale.

Studio delle famiglie e nuove forme sindromiche

Se la individuazione di famiglie con più casi affetti rappresenta una strategia privilegiata per gli studi di genetica molecolare, fin dall'inizio una particolare attenzione è stata data alle famiglie particolarmente ampie, informative e con trasmissione genetica mendeliana.

Questo tipo di ricerca ha avuto un impatto straordinario sulla clinica e sulla nosografia delle epilessie, permettendo di definire ed individuare nuove autonome forme sindromiche, poi confluite nella nuova proposta di classificazione internazionale delle epilessie¹⁹. In queste nuove forme sindromiche ritroveremo i risultati più significativi di localizzazione cromosomica e di definizione di geni mutati. Riportiamo di seguito alcuni esempi di queste nuove forme sindromiche individuate con la rilevazione di ampie famiglie informative:

- epilessia con crisi infantili benigne familiari⁴⁶ caratterizzata dalla presenza di crisi di tipo parziale in cluster, tra i 4 ed i 7 mesi di età, in assenza di ritardo psicomotorio e patologie neurologiche e dismetaboliche. In alcuni ceppi familiari queste convulsioni infantili si associano a coreoatetosi, favorita da ansia o attività fisica⁴⁴. Queste famiglie si caratterizzano per una trasmissione di tipo autosomico dominante ad elevata penetranza;

- epilessia notturna del lobo frontale autosomica dominante³⁹. Questa forma si caratterizza da crisi parziali notturne di tipo ipermotorio, di breve durata, con età di insorgenza variabile e con buon andamento prognostico. Non sono presenti sintomi neurologici e lo sviluppo psicomotorio è normale;

- epilessia familiare del lobo temporale. Questa forma idiopatica con trasmissione autosomica dominante, si differenzia sul piano nosografico e genetico in due forme distinte in relazione alla semiologia delle crisi: la forma laterale con crisi di tipo uditivo o afasico³⁷ e la forma mesiale con crisi con sospensione della coscienza, sensoriali e con automatismi gestuali⁶;

- epilessia focale familiare con foci variabili. Sono state descritte rare famiglie che si caratterizzano per una diversa localizzazione focale clinica ed EEG nei diversi membri affetti della famiglia, prevalentemente in sede frontale, temporale ed occipitale⁴¹;

- epilessia generalizzata con crisi febbrili plus. Questa peculiare forma clinica si caratterizza per una notevole espressività clinica variabile. Possiamo ritrovare nella stessa famiglia casi con convulsioni febbrili che persistono oltre i sei anni (convulsioni febbrili plus), convulsioni febbrili semplici, altre epilessie generalizzate idiopatiche dalle forme con assenze infantili fino alle forme con crisi mioclonico-astatiche, epilessia mioclonica severa dell'infanzia ed epilessie focali⁴⁰;

- epilessia mioclonica familiare dell'adulto. Questa forma descritta inizialmente da Autori giapponesi si caratterizza per una trasmissione autosomica dominante e clinicamente presenta un mioclono corticale associato a rare crisi tonico-cloniche generalizzate⁴⁹.

Queste nuove forme cliniche, per la struttura della famiglia che ha facilitato studi parametrici di *linkage*, hanno fornito al momento le maggiori informazioni genetiche di localizzazione cromosomica e soprattutto di mutazioni geniche in particolare a carico dei canali voltaggio-dipendenti del sodio, del potassio, del cloro, del calcio e dei recettori del GABA e dell'acetilcolina.

La trasmissione genetica e le strategie di studio

La strategia nella raccolta delle famiglie ha privilegiato in una prima fase la individuazione di ampie famiglie informative multigenerazionali, utili per studi di analisi genetica di *linkage* e questo ha permesso la individuazione di nuove sindromi cliniche, altrimenti non conosciute fino a dieci anni fa.

Al contrario nelle forme di epilessia idiopatica più comuni, quali le epilessie generalizzate idiopatiche, la individuazione di famiglie con trasmissione genetica mendeliana è eccezionale. Vengono segnalate rare famiglie informative multigenerazionali con epilessia mioclonica giovanile e con epilessia con crisi di assenza. Nella situazione più frequente abbiamo o casi sporadici o famiglie piccole, con concordanza sindromica all'interno del nucleo familiare e prevalentemente con solo due casi affetti (fratelli o genitore-figlio).

Questa situazione obiettiva ci permette di rilevare che, con l'eccezione delle rare forme mendeliane in prevalenza di tipo autosomico dominante, la quasi totalità delle forme di epilessia idiopatiche ha una trasmissione genetica di tipo complesso. Lo studio dell'architettura genetica in particolare delle epilessie generalizzate orienta per un coinvolgimento nel determinismo della sindrome di pochi geni (trasmissione complessa oligogenica) piuttosto che di molti geni o di altri fattori ambientali (poligenica e/o multifattoriale).

La complessità genetica di questa malattia ha modificato l'impostazione dello studio genetico che, considerata la difficoltà a reperire ampie famiglie per studio classico di *linkage*, si sta orientando a metodi di studio di *linkage* non parametrico utilizzando due casi affetti nella stessa famiglia o un caso affetto e due genitori non affetti. Inoltre dalla raccolta di casi singoli con fenotipo ben definito, è possibile effettuare studi di associazione con le mutazioni di geni candidati o con i polimorfismi del singolo nucleotide di geni anonimi²⁶.

Si conferma pertanto l'importanza di una rigorosa metodologia di genetica clinica nello studio del singolo caso clinico o delle famiglie con più casi affetti. Appare inoltre opportuno, secondo la strategia adottata dalla Lega Italiana Contro l'Epilessia, che venga previsto un comitato di garanti che validi i documenti clinico-diagnostici di ogni caso, che le famiglie possano essere presentate e discusse pubblicamente nel corso di riunioni scientifiche, che si realizzi una Banca Dati con tutti i dati clinici e diagnostici di ogni singolo caso ed una comune Banca del DNA dove sia depositato il materiale biologico delle famiglie e dei casi individuati, da utilizzare per studi di genetica molecolare.

Conclusioni

La ricerca genetica nelle epilessie rappresenta la frontiera di studio più suggestiva e promettente di risultati. Le nuove acquisizioni genetiche stanno determinando un forte impatto nella conoscenza di questa malattia relativamente ai meccanismi biologici, alla patogenesi, alla definizione sindromica, alla consulenza genetica ed alla risposta farmacologica.

Il clinico epilettologo, invece di essere superato dalla rapidità tumultuosa dei risultati che emergono dalla ricerca genetica molecolare, vede in questo campo riaffermata l'importanza e la centralità del proprio ruolo. Abbiamo infatti visto come l'attento studio del fenotipo clinico dei diversi casi affetti e la individuazione e raccolta di famiglie con epilessia rappresenta la condizione essenziale per ogni successivo studio genetico.

Inoltre, al momento non sappiamo rispondere a molti interrogativi sulla trasmissione e la variabilità dell'architettura genetica delle diverse sindromi epilettiche. Gli studi di genetica clinica sui gemelli, sui tratti EEG, sulla popolazione e sulle famiglie con epilessia si confermano, pertanto, di estrema attualità scientifica nella ricerca epilettologica.

Riassunto

Le epilessie comprendono sindromi diverse per eziologia e per caratteristiche cliniche e prognostiche. Le sindromi idiopatiche e alcune rare forme generalizzate sintomatiche riconoscono una eziologia genetica certa o probabile. La prima strategia finalizzata a definire e caratterizzare l'eziologia genetica è data dallo studio sui gemelli, dove si osserva una netta maggiore prevalenza della concordanza nei gemelli monozigoti rispetto ai dizigoti, soprattutto nelle forme idiopatiche.

Gli studi sull'elettroencefalogramma hanno permesso di individuare una netta prevalenza familiare di alcuni tratti epilettiformi generalizzati o focali. Tuttavia questa tecnica ha evidenziato forti limiti, legati in particolare all'età-dipendenza del tratto, che ne ha limitato l'uso come marker genetico.

Gli studi familiari di popolazione ci hanno permesso di comprendere e di stimare la percentuale del rischio che ha un nuovo nato a sviluppare una forma di epilessia quando vi è un affetto in famiglia.

Questi studi hanno evidenziato la complessità genetica delle epilessie e la necessità di individuare famiglie con più casi affetti, utili per studi di genetica molecolare. È importante che in ogni caso affetto il fenotipo venga accuratamente descritto e che il pedigree della famiglia venga costruito secondo una metodologia di studio rigorosa, non dimenticando le implicazioni etiche di questi studi.

La raccolta di ampie casistiche di famiglie con più casi affetti ha permesso di evidenziare che vi è una concordanza per la stessa forma clinica solo nel 25% dei casi, mentre negli altri casi vi sono più forme cliniche di epilessia, che la concordanza sindromica è maggiore nei parenti di primo grado, mentre nei parenti più lontani osserviamo altre forme cliniche, comprese crisi febbrili, espressione di una suscettibilità familiare alle crisi non di tipo specifico.

In particolare lo studio di famiglie con più casi affetti da epilessie generalizzate idiopatiche, ha permesso di evidenziare l'autonomia genetica delle crisi con assenza rispetto alle crisi miocloniche.

La individuazione di ampie famiglie informative ha permesso di descrivere nuove rare forme sindromiche quali l'epilessia con crisi infantili benigne familiari, l'epilessia notturna del lobo frontale autosomica dominante, l'epilessia familiare del lobo temporale, l'epilessia focale familiare con foci variabili, l'epilessia generalizzata con crisi febbrili plus e l'epilessia mioclonica familiare dell'adulto. Al contrario, nelle forme idiopatiche generalizzate più comuni è eccezionale trovare ampie famiglie mendeliane, mentre più frequentemente abbiamo casi sporadici o famiglie piccole e con pochi casi affetti.

Pertanto nelle sindromi idiopatiche, con l'eccezione di rare forme a trasmissione mendeliana prevalentemente di tipo autosomico dominante, riscontriamo una trasmissione genetica di tipo complesso. Gli studi familiari ci permettono ora di affermare che le diverse sindromi idiopatiche sono determinate da pochi geni (trasmissione complessa oligogenica), piuttosto che da molti geni o altri fattori ambientali (trasmissione complessa poligenica e/o multifattoriale).

Bibliografia

- 1 Anderson VE, Rich SS, Hauser WA, Wilcox KJ. *Family studies in epilepsy*. In: Anderson VE, Hauser WA, Leppik IE, Noebels JL, Rich SS, eds. *Genetic strategies in epilepsy research*. Elsevier Science Publ 1991, pp. 89-104.
- 2 Annegers JF, Hauser WA, Anderson VE. *Risk of seizures among relatives of patients with epilepsy: families in a defined population*. In: Anderson VE, Hauser WA, Penry JK, Sing CF, eds. *Genetic basis of the epilepsies*. New York: Raven Press 1982, pp. 151-159.
- 3 Annegers JF, Hauser WA, Shirts SB, Kurland LT. *Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions* N Engl J Med 1987;316:493-8.
- 4 Beck-Mannagetta G, Janz D. *Syndrome-related genetics in generalized epilepsy*. In: Anderson VE, Hauser WA, Leppik IE, Noebels JL, Rich SS, eds. *Genetic strategies in epilepsy research*. Elsevier Science Publ 1991, pp. 105-112.
- 5 Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. *Twin birth is not a risk factor for seizures*. Neurology 1993;43:2515-9.
- 6 Berkovic SF, Howell RA, Hopper JL. *Familial temporal lobe epilepsy: a new syndrome with adolescent/adult onset and benign course*. In: Wolf P, ed. *Epileptic seizures and syndromes*. London: John Libbey & Co 1994, pp. 257-263.
- 7 Berkovic SF, McIntosh A, Howell RA, Mitchell A, Sheffield LJ, Hopper JL. *Familial temporal lobe epilepsy: a common disorder identified in twins*. Ann Neurol 1996;40:227-35.
- 8 Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. *Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes*. Ann Neurol 1998;43:435-45.

- 9 Bianchi A, Tiezzi A, Buzzi G. *The characterization of clinical subforms through the study of twins with epilepsy*. *Epilepsia* 1993;34:17.
- 10 Bianchi A, and Italian League against Epilepsy collaborative group. *Study of concordance of symptoms in families with absence epilepsies*. In: Duncan JS, Panayiotopoulos CP, eds. *Typical Absences and Related Epileptic Syndromes*. London: Churchill Communications 1995, pp. 328-338.
- 11 Bianchi A, Viaggi S, Chioffi E, LICE Episcreeen group. *Family study of epilepsy in first degree relatives: data from the Italian Episcreeen study*. *Seizure* 2003;12:203-10.
- 12 Briellmann RS, Jackson GD, Torn-Broers Y, Berkovic SF. *Causes of epilepsies: insights from discordant monozygous twins*. *Ann Neurol* 2001;49:45-52.
- 13 Commission on classification and terminology of the ILAE. *Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes*. *Epilepsia* 1989;30:389-99.
- 14 Corey LA, Berg K, Pellock IM, Solaas MH, Nance WE, DeLorenzo RJ. *The occurrence of epilepsy and febrile seizures in Virginian and Norwegian twins*. *Neurology* 1991;41:1433-6.
- 15 Degen R, Degen HE, Roth CH. *Some genetic aspects of idiopathic and symptomatic absence seizures: waking and sleep EEGs in siblings*. *Epilepsia* 1990;31:784-94.
- 16 Doose H, Gerken H. *On the genetics of EEG anomalies in childhood. IV. Photoconvulsive reaction*. *Neuropadiatrie* 1973;4:162-71.
- 17 Doose H, Gerken H, Kiefer R, Volzke E. *Genetic factors in childhood epilepsy with focal sharp waves*. *Neuropadiatrie* 1977;8:10-20.
- 18 Eeg-Olofsson O, Petersen I, Sellden U. *The development of the electroencephalogram in normal children from age 1 through 15 years. Paroxysms activity*. *Neuropadiatrie* 1971;2:375-404.
- 19 Engel JJ. *A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology*. *Epilepsia* 2001;42:796-803.
- 20 Gerken H, Doose H. *On the genetics of EEG anomalies in childhood. III. Spikes and waves*. *Neuropadiatrie* 1973;4:88-97.
- 21 Godard B, Cardinal G. *Ethical implications in genetic counseling and family studies of the epilepsies*. *Epil Behav* 2004;5:621-6.
- 22 Hauser WA, Kurland LT. *The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota 1935-1967*. *Epilepsia* 1975;16:1-66.
- 23 Hauser WA, Annegers JF, Anderson VE, et al. *The risk of seizure disorders among relatives of children with febrile convulsions*. *Neurology* 1985;35:1268-73.
- 24 Hauser WA, Hesdorffer DC. *Facts about epilepsy*. New York: Demos publications 1990, pp. 1-66.
- 25 Heijben JR, Blom S, Rasmuson M. *Benign epilepsy of childhood with centro-temporal EEG foci. A genetic study*. *Epilepsia* 1975;16:285-93.
- 26 ILAE Genetics Commission. *ILAE genetics commission conference report: molecular analysis of complex genetics epilepsies*. *Epilepsia* 2002;43:1262-7.
- 27 Inouye E. *Observations on forty twin index cases with chronic epilepsy and their co-twins*. *J Nerv Ment Dis* 1960;130:401-16.
- 28 Italian League Against Epilepsy Genetic Collaborative Group. *Concordance of clinical forms of epilepsy in families with several affected members*. *Epilepsia* 1993;34:819-26.
- 29 Johnson MR, Milne RL, Torn-Broers Y, Hopper JL, Scheffer IE, Berkovic SF. *A twin study of genetic influences on epilepsy outcome*. *Twin Res* 2003;6:140-6.
- 30 Lennox WG, Lennox MA. *Epilepsy and related disorders*. Boston: Little Brown 1960:548-74.
- 31 Lennox-Buchthal M. *Febrile convulsions: a reappraisal*. *Electroenc Clin Neurophysiol* 1973;32:37-8.
- 32 Marini C, Scheffer IE, Crossland KM. *Genetic architecture of idiopathic generalized epilepsy: clinical genetic analysis of 55 multiplex families*. *Epilepsia* 2004;45:467-78.
- 33 Metrakos K, Metrakos JD. *Genetic of convulsive disorders. II. Genetic and electroencephalographic studies in centroencephalic epilepsy*. *Neurology* 1961;11:474-83.
- 34 Miller LL, Pellock JM, Boggs JG, De Lorenzo RJ, Meyer JM, Corey LA. *Epilepsy and seizure occurrence in a population-based sample of Virgilian twins and their families*. *Epil Res* 1999;34:135-43.

- ³⁵ Ottman R, Annegers JF, Hauser WA, Kurland LT. *Higher risk of seizures in offspring of mothers than of fathers with epilepsy*. Am J Hum Genet 1988;43:257-64.
- ³⁶ Ottman R, Annegers JF, Hauser WA, Kurland LT. *Seizure risk in offspring of parents with generalized vs. partial epilepsy*. Epilepsia 1989;30:157-61.
- ³⁷ Ottman R, Risch N, Hauser WA, Pedley TA, Lee JH, Barker-Cummings C, et al. *Localization of gene for partial epilepsy to chromosome 10 q*. Nat Genet 1995;10:56-60.
- ³⁸ Ottman R, Annegers JF, Risch N. *Relations of genetic and environmental factors in the etiology of epilepsy*. Ann Neurol 1996;39:442-9.
- ³⁹ Scheffer IE, Bhatia KP, Lopes-Cendes I, Fish DR, Marsden CD, Andermann E, et al. *Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A distinctive clinical disorder*. Brain 1995;118:61-73.
- ⁴⁰ Scheffer IE, Berkovic SF. *Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a genetic disorder with heterogeneous clinical phenotypes*. Brain 1997;120:479-90.
- ⁴¹ Scheffer IE, Phillips HA, O'Brien CE, Saling MM, Wrennall JA, Wallace RH, et al. *Familial partial epilepsy with variable foci: a new partial epilepsy syndrome with suggestion of linkage to chromosome 2*. Ann Neurol 1998;44:890-9.
- ⁴² Schiottz-Christensen E. *Genetic factors in febrile convulsions: an investigation of 64 same-sexed twin pairs*. Acta Neurol Scand 1972;48:538-46.
- ⁴³ Sillanpaa M, Koskenvuo M, Romanov K, Kaprio J. *Genetic factors in epileptic seizures: evidence from a large twin population*. Acta Neurol Scand 1991;84:523-6.
- ⁴⁴ Szeppetowski P, Rochette J, Berquin P, Piuissan C, Lathrop GM, Monaco AP. *Familial infantile convulsions and paroxysmal choreoathetosis: a new neurological syndrome linked to the pericentromeric region of human chromosome 16*. Am J Hum Genet 1997;61:889-98.
- ⁴⁵ Tsuboi T, Endo S. *Genetic studies of febrile convulsions: analysis of twin and family data*. In: Anderson VE, Hauser WA, Leppik IE, Noebels JL, Rich SS, eds. *Genetic strategies in epilepsy research (Epilepsy Res. Suppl 4)*. Elsevier Science Publ 1991, pp. 119-128.
- ⁴⁶ Vigeveno F, Fusco L, Di Capua M, Ricci S, Sebastianelli R, Lucchini P. *Benign Infantile Familial Convulsions*. Eur J Pediatr 1992;152:608-12.
- ⁴⁷ Winawer MR, Rabinowitz D, Pedley TA, Hauser WA, Ottman R. *Genetic influences on myoclonic and absence seizures*. Neurology 2003;61:1576-81.
- ⁴⁸ Winawer MR, Marini C, Grinton BE, Rabinowitz D, Berkovic SF, Scheffer IE, et al. *Familial clustering of seizure types within the idiopathic generalized epilepsies*. Neurology 2005;65:523-8.
- ⁴⁹ Yasuda T. *Benign adult familial myoclonic epilepsy (BAFME)*. Kawasaki Med J 1991;17:1-13.