

La sclerosi tuberosa: epilessia e genetica

Tuberous Sclerosis: genetics and epilepsy

B. CALIANI, G. BARTALINI, M. BALESTRI*, R. BOMBARDIERI*

*Clinica Pediatrica, Università di Siena; *U.O. di Neuropsichiatria Infantile,
Università "Tor Vergata", Roma*

a cura di P. CURATOLO e P. BALESTRI

PAROLE CHIAVE. — Sclerosi tuberosa - Epilessia - Genetica - Genotipo-fenotipo
KEY WORDS. — *Tuberous sclerosis - Epilepsy - Genetics - Genotype-phenotype*

*Per invito
Invited article*

Summary

Tuberous Sclerosis Complex is an autosomal dominant multisystem disorder involving cellular differentiation and proliferation that variably affects many organs including skin, brain, heart, retina, kidney and lung. It results from a mutation of either the TSC1 gene on chromosome 9 or the TSC2 gene on chromosome 16 encoding hamartin and tuberin respectively. These two proteins interact to form a single signalling complex that regulates several important intracellular pathways. TSC1 and TSC2 mutations result in similar phenotypes, although TSC2 mutations are more common in sporadically affected subjects which show more severe clinical features. The main neurological manifestations include epilepsy, often resistant to antiepileptic drugs, mental retardation and behavioral problems. Our experience indicate that TSC2 gene is more frequently involved than TSC1, as reported in recent studies. Infantile spasms and mental retardation are frequently observed in patients with TSC2 mutations; however it must be considered that mental retardation may be also correlated with the presence of infantile spasms. The better understanding of hamartin and tuberin functions will probably be able to provide further informations on the genotype-phenotype relationship and to develop more specific antiepileptic drugs.

Introduzione

La Sclerosi Tuberosa (ST) è un disordine multisistemico a trasmissione autosomica-dominante, ad alta penetranza ed espressività variabile, caratterizzato da un'alterazione nei processi di proliferazione e differenziazione cellulare tale da determinare la formazione di "amartomi" in vari organi e tessuti, tra cui cute, encefalo, cuore, retina, reni e polmoni.

Le principali manifestazioni neurologiche sono l'epilessia, il ritardo mentale e i disturbi del comportamento, anche se non è infrequente trovare pazienti che non mostrano alcuna compromissione neurologica ^{7 25}.

Studi epidemiologici riportano un'incidenza compresa tra 1:6000 e 1:10000 individui nati vivi; è verosimile che questi dati sottostimino la reale incidenza della malattia in quanto soggetti con fenotipo clinico lieve possono sfuggire alla diagnosi ^{23 29}.

Genetica

Due differenti geni, attivi praticamente in ogni tessuto, possono causare indipendentemente la malattia, uno localizzato sul cromosoma 9q34.3 (TSC1) che codifica per l'Amartina e l'altro sul cromosoma 16p13.3 (TSC2), il cui prodotto proteico è la Tuberina. Mutazioni dei geni TSC1 o TSC2 determinano fenotipi clinici simili per cui è verosimile che Amartina e Tuberina agiscano insieme all'interno di vie metaboliche che regolano i processi di proliferazione e differenziazione cellulare. Tuberina e Amartina hanno una struttura simile caratterizzata da diversi domini funzionali (Fig. 1) ¹⁸.

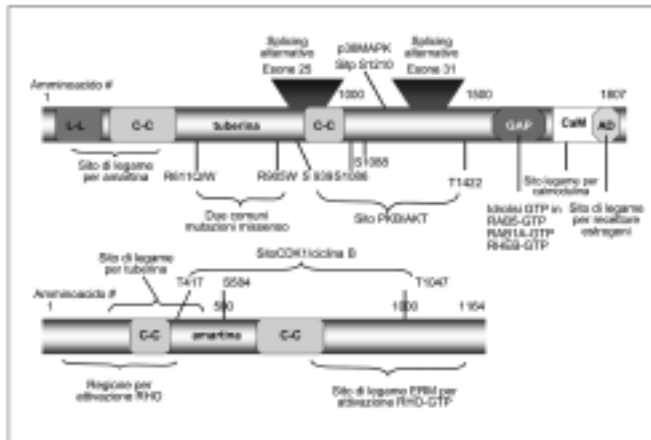


Fig. 1. Domini funzionali all'interno dei geni TSC1 e TSC2.

Il gene TSC2 mappa su una regione del cromosoma 16 distante circa 2.25 Mb dal telomero ed è adiacente al gene PKD1, responsabile del rene policistico. Il trascritto di 5.5 Kb comprende 42 esoni noti di cui 41 codificano per la Tuberina, costituita da 1807 aminoacidi. Nel gene si riconoscono alcuni domini funzionali tra cui un dominio leucina-zipper, due domini coiled-coil per l'interazione con l'Amartina e con altre proteine, alcuni siti bersaglio di chinasi (serina e treonina chinasi) che inibiscono l'attività della Tuberina, un sito di legame per la calmodulina e un dominio di attivazione della trascrizione di specifici geni. I 163 aminoacidi vicini alla estremità COOH terminale sono omologhi al dominio catalitico della guanosina trifosfatasi che attiva la proteina GAP3 (rap1GAP). Le proteine GAP regolano il legame del GTP e l'attività idrolasica della superfamiglia delle proteine Ras che contribuiscono a regolare la crescita, la proliferazione e la differenziazione cellulare.

Il gene TSC1 è costituito da 23 esoni di cui gli ultimi 21 contengono sequenze codificanti. L'amartina, composta da 1164 aminoacidi, contiene due domini coiled-coil, uno dei quali interviene nell'interazione con la Tuberina e nell'attivazione di RHO-GTP (guanosa trifosfato fosfatasi RAS-omologhi); il ruolo del secondo dominio deve ancora essere chiarito. La regione terminale dell'Amartina interagisce con una proteina del citoscheletro definita EMR che probabilmente interviene nel traffico proteico e vescicolare o nella migrazione cellulare. Recentemente sono stati individuati siti bersaglio di cicline (CIDK1/Ciclica B) implicate nella progressione del ciclo cellulare¹⁸.

Sebbene il ruolo di Amartina e Tuberina non sia ancora del tutto chiaro, numerosi studi dimostrano che le due proteine interagiscono tra loro formando un complesso stabile che interviene nella regolazione del trasporto proteico e nei processi di proliferazione, differenziazione, adesione e migrazione cellulare (Fig. 2).

Il complesso Amartina-Tuberina interviene nella regolazione della traduzione proteica, della crescita e della proliferazione cellulare inattivando Rheb-GTP (*guanosa triphosphatase Ras homolog enriched in brain*) e mTOR (*mammalian target of Rapamicin*). In presenza di fattori di crescita o nutrienti, l'attività della Tuberina viene inibita dalla fosforilazione di alcuni residui di serina e treonina da parte della proteina PKB/Akt (*Protein Kinase B, murine thymoma viral oncogene homolog*) per rimuovere l'inibizione su mTOR. Quindi, attivando la proteina S6K (*S6 Kinase*) e inibendo il fattore 4E-BP1 (*suppressor factor 4E binding protein 1*), vengono stimolati l'assemblaggio ribosomiale e la sintesi proteica. La Rapamicina è un farmaco immunosoppressore comunemente usato nei trapianti d'organo e nel trattamento di neoplasie che agisce farmacologicamente inibendo mTOR. Le sue potenzialità nel "trattamento" degli amartomi nella ST sono in corso di valutazione con trials internazionali.

Il complesso Amartina-Tuberina interagendo con la proteina GSK3 (*Glycogen synthase kinase 3*) sopprime il segnale inviato da WNT promuovendo la degradazione della β -catenina, da cui dipende la progressione del ciclo cellulare¹⁸.

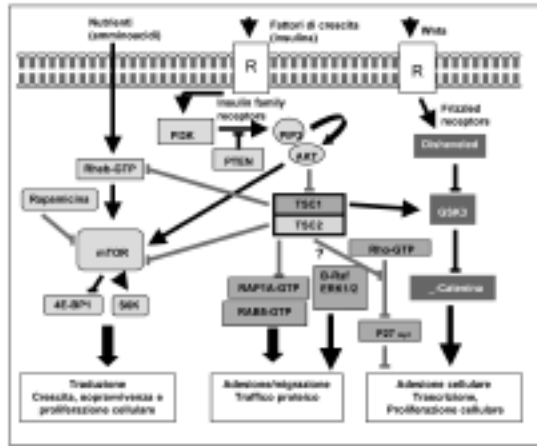


Fig. 2. Funzioni del complesso Amartina-Tuberina.

La Tuberina inibisce le proteine RAP1A (*Ras-related protein 1A*) e RAB 5 (Rabaptin 5) suggerendo il possibile ruolo del complesso Amartina-Tuberina nella regolazione del traffico proteico vescicolare e della migrazione cellulare.

La proteina Rho è una guanosina trifosfatasi con molteplici ruoli che comprendono la regolazione del traffico vescicolare, della sopravvivenza e della migrazione cellulare e della progressione del ciclo cellulare tramite la soppressione del fattore $p27^{kip1}$ (27kDa *cyclin-dependent kinase inhibitor 1B*)¹⁸.

Le mutazioni finora identificate, oltre 1000 tra delezioni e mutazioni puntiformi, indicano un più frequente coinvolgimento del gene TSC2 (80%) rispetto al gene TSC1 (20%)¹⁸. Recentemente è stato osservato che le mutazioni del gene TSC1 interessano più frequentemente gli esoni 15-17, che rappresentano il 17% della regione genica codificante. I nuovi casi di ST sarebbero dovuti ad una mutazione germinale insorta nella gonade di un genitore sano, al momento della formazione dei gameti oppure ad una mutazione somatica, insorta nell'embrione durante le fasi più precoci dello sviluppo. In quest'ultimo caso il malato viene definito "mosaico", in quanto possiede due popolazioni cellulari differenti (una con la mutazione e l'altra senza). Perché si sviluppino gli amartomi occorre che una cellula con la prima mutazione manifesti un'altra mutazione sull'altro allele, così da ridurre o abolire completamente la produzione di amartina o tuberina normale. È importante sottolineare che, al momento attuale, anche adottando i test più sofisticati, nel 10-15% dei malati non si rilevano mutazioni né in TSC1 né in TSC2; bassi livelli di mosaicismo potrebbero spiegare almeno in parte la negatività del test genetico.

Inoltre i difetti di TSC2 sono significativamente più rappresentati tra i casi sporadici, mentre i difetti di TSC1 si trovano più spesso in famiglie con più

membri affetti. Ciò fa supporre che le mutazioni TSC2 siano associate ad un quadro clinico più grave e che quindi i pazienti con mutazione del gene TSC1 possano più frequentemente sfuggire alla diagnosi. Questo sembra avvalorato da una maggiore frequenza di spasmi infantili, difficoltà di apprendimento e ritardo mentale tra i pazienti sporadici con mutazione TSC2 rispetto a quelli sporadici con difetto di TSC1¹⁷.

L'estrema variabilità fenotipica, anche interfamiliare, tra i pazienti con TSC1 o TSC2 potrebbe essere dovuta al meccanismo della "seconda mutazione", al mosaicismo somatico e all'intervento di geni modificatori¹⁷.

Lesioni cerebrali

Le più comuni lesioni cerebrali identificate nella ST sono i tuberi cortico-sottocorticali, le strie di migrazione radiale della sostanza bianca, i noduli subependimali e gli astrocitomi gigantocellulari⁹.

I tuberi sono formazioni amartomatose variabili in morfologia, dimensioni e numero, localizzate nella sostanza grigia o più spesso nel territorio di confine tra grigia e bianca; talvolta possono essere presenti anche a livello cerebellare⁹. Non esiste una localizzazione preferenziale né una chiara associazione tra la localizzazione di un determinato tubero ed una specifica caratteristica clinica, anche se è stato già sottolineato come l'elevato numero di tuberi possa condizionare in modo sfavorevole l'*outcome* neurologico del paziente¹³. Talvolta il tubero può andare incontro ad una degenerazione cistica nella sua parte interna²⁶. Non raramente i tuberi possono presentare aree focali di calcificazione e spesso la corteccia sovrastante il tubero risulta displastica o con aspetto suggestivo di pachigia o polimicrogia³. Istologicamente i tuberi sono caratterizzati da una laminazione corticale disorganizzata, aberranti arborizzazioni detritiche e proiezioni assionali, neuroni displastici/eterotopici con proliferazione di astrociti e cellule giganti o "*ballon cells*" che rappresentano il marker istologico dei tuberi⁴.

I noduli subependimali sono disposti nelle pareti ventricolari e si localizzano più frequentemente nei ventricoli laterali pur potendo essere presenti a qualunque livello. Questi appaiono come piccole protrusioni all'interno dei ventricoli stessi e possono presentare aree calcifiche. Istologicamente sono costituiti prevalentemente da astrociti displastici e da cellule con caratteristiche sia neuronali che astrocitiche⁹. I noduli che si localizzano in prossimità del forame di Monro hanno la caratteristica di aumentare le loro dimensioni nel tempo. Questi noduli subependimali sono definiti anche astrocitomi subependimali a cellule giganti e si riscontrano nel 10-15% dei pazienti con ST. L'aumento di volume degli astrocitomi gigantocellulari avviene solitamente dopo i 10 anni di vita e può determinare ostruzione liquorale e invasione della regione chiasmatica ed ipotalamica, con conseguente endocrinopatia e disturbi visivi. Poiché la loro ve-

locità di crescita non è prevedibile e in alcuni casi può essere indicata la rimozione chirurgica prima che si dimostrino sintomatici, è fondamentale attuare un attento follow-up neuroradiologico ¹⁴.

Nel 20-30% dei pazienti con ST sono identificabili strie di migrazione nella sostanza bianca che possono estendersi dalla superficie subependimale fino ai tuber corticali oppure fino alla corteccia cerebrale ⁹.

Sono state inoltre segnalate, in associazione con la ST, parziale agenesia del corpo calloso, displasia corticale con anomalie di girazione ed eterotopie, fino a quadri di “*transmantle cortical displasia*”. La displasia può interessare un intero lobo o addirittura un intero emisfero cerebrale determinando un quadro di emimegalencefalia; in rari casi sono stati riportati nella ST anche quadri di schizencefalia. Sono state anche descritte anomalie vascolari, quali aneurismi intracranici e vasculiti tipo *moya-moya*.

Una certa quota (< 30%) di pazienti con ST presentano anche lesioni sottotentoriali, quali tuber cerebellari, strie di migrazione radiale della sostanza bianca e più raramente agenesia del verme cerebellare e iperplasia di un emisfero cerebellare. Raramente i tuber si sviluppano nel pavimento del IV ventricolo, determinando l'interessamento dei nuclei encefalici implicati nel controllo dell'attività respiratoria ⁹.

Epilessia

L'epilessia è presente in circa il 70-90% dei pazienti durante l'infanzia e spesso le crisi risultano farmacoresistenti. L'esordio dell'epilessia avviene spesso entro il primo anno di vita come spasmi infantili, la cui frequenza varia dal 33 al 75% dei casi ⁵. L'età di esordio degli spasmi infantili nella ST è compresa tra 4 e 6 mesi, sebbene in alcuni casi possa essere anche più precoce (intorno ai 2 mesi di vita). In circa 1/3 dei pazienti con ST gli spasmi infantili possono essere preceduti o accompagnati da crisi parziali, quali ad esempio crisi toniche o cloniche di un emilato, spesso localizzate al volto o agli arti, oppure deviazioni toniche degli occhi o della testa; tali episodi critici possono non essere riconosciuti dai genitori fino all'esordio degli spasmi infantili. È verosimile che almeno in alcuni casi gli spasmi possano essere l'espressione di una secondaria generalizzazione di crisi parziali. Questi sono comunque clinicamente ed elettroencefalograficamente diversi dalla Sindrome degli spasmi infantili classica con ipsaritmia. In effetti l'EEG, per quanto gravemente alterato, frequentemente (circa il 70% in alcune serie) non ha le caratteristiche di vera e propria ipsaritmia, ma appare caratterizzato da un'attività multifocale asincrona di punte e onde irregolari di 2-3 Hz. L'attività epilettiforme incrementa durante il sonno non-REM; le anomalie focali e multifocali tendono a generalizzare e scariche di polipunte sincrone e onde, separate da tratti in cui si osserva riduzione di voltaggio, divengono evidenti in modo analogo a quanto si osserva nell'ipsaritmia ⁵.

Gli elementi fisiologici del sonno non sono sempre visibili, in relazione all'entità delle anomalie epilettiformi. Nel sonno REM, al contrario, l'attività epilettiforme è meno evidente, le scariche generalizzate sono usualmente ridotte e c'è una chiara tendenza dei foci EEG a divenire spazialmente molto ristretti. Disturbi del sonno sono molto frequentemente associati agli spasmi e sono talvolta inquadrabili come eventi epilettici sonno-relati ².

Frequentemente, in concomitanza o nelle settimane immediatamente precedenti l'esordio degli spasmi, i pazienti presentano regressione neuromotoria con indifferenza rispetto all'ambiente circostante e modificazioni del comportamento associate ad una maggiore irritabilità. È nota la stretta relazione tra presenza di spasmi infantili e difetto dello sviluppo cognitivo, sebbene sia comunque possibile che bambini con ST e spasmi infantili controllati possano avere uno sviluppo intellettivo nei limiti della norma ²².

Il farmaco di scelta nel trattamento degli spasmi infantili associati alla ST è il Vigabatrin, inibitore irreversibile dell'enzima GABA aminotransferasi, somministrato in dosi fino a 100 mg/kg/die ⁶. La sua utilizzazione nella ST, ormai indiscussa, è in parte limitata dalla possibilità di effetti collaterali sulla retina. Anche se non sono disponibili molti dati sulla reale incidenza della "retinopatia" in età pediatrica, probabilmente meno frequente rispetto all'età adulta, è comunque opportuno che i pazienti in trattamento con Vigabatrin e non collaboranti vengano monitorizzati tramite elettroretinogramma *full-field*, che potrà dimostrare, in caso di tossicità, riduzione di circa 30 Hz dell'ampiezza della risposta (onda b) dei coni. È possibile che la "retinopatia" gabaergica sia direttamente correlata alla dose ed alla durata del trattamento. In alcuni pazienti è stata riportata la reversibilità dei difetti del campo visivo in seguito alla sospensione del trattamento ²⁸.

La maggior parte dei bambini con ST che hanno presentato spasmi infantili all'esordio dell'epilessia sviluppano in seguito crisi parziali di tipo motorio, parziali-complesse o apparentemente generalizzate toniche, cloniche, tonico-cloniche o atoniche. In conseguenza della maturazione cerebrale il pattern EEG "simil-ipsaritmico" tende a scomparire e si evidenziano punte o onde ad insorgenza focale, con possibilità di evoluzione verso anomalie di tipo multifocale. Durante il sonno l'EEG è caratterizzato da attività parossistica di tipo multifocale associata a scariche di punta-onda lente bilaterali e sincrone, con un pattern simile a quello che si può riscontrare nella Sindrome di Lennox-Gastaut ⁵.

Nei primi anni di vita l'esordio dell'epilessia può essere, anche, con crisi parziali o con crisi parziali con secondaria generalizzazione. Per questo tipo di crisi non esiste un farmaco di "prima scelta" e pertanto vengono utilizzati in monoterapia o in associazione vari tipi di anticonvulsivanti che sono in genere efficaci sulle crisi parziali, quali Carbamazepina, Oxcarbazepina, Topiramato, Lamotrigina e Levetiracetam la cui efficacia e tollerabilità è stata testata nei pazienti con ST ed epilessia ^{10-12 15}.

Molti pazienti con ST presentano però epilessia farmacoresistente (EFR) ed in questi casi possono essere presi in considerazione trattamenti alternativi quali la dieta chetogena, lo stimolatore vagale o la chirurgia dell'epilessia^{8,27}. Non esistono sufficienti dati in letteratura circa l'efficacia della dieta chetogena nel trattamento dell'epilessia associata alla ST. Per quanto riguarda lo stimolatore vagale, Parain et al. riportano i dati relativi all'applicazione dello stimolatore in 10 pazienti con EFR ed ST segnalando che 9 hanno ottenuto una riduzione della frequenza delle crisi superiore al 50% e 5 di questi ultimi hanno presentato riduzione delle crisi pari al 90%²⁴. Il ruolo della chirurgia dell'epilessia nella ST è controverso dato che molti pazienti presentano tubercoli corticali multipli e non una singola lesione epilettogena identificabile. Inoltre può risultare estremamente difficile individuare l'area da cui origina la crisi usando tecniche classiche di valutazione pre-chirurgica. Anche utilizzando il monitoraggio video-EEG non è sempre agevole correlare l'inizio degli episodi critici con una ben localizzabile modificazione EEG, che è spesso caratterizzato da anomalie apparentemente generalizzate, bilaterali o multifocali. Tuttavia è ormai un dato acquisito che la chirurgia dell'epilessia, in alcuni pazienti con ST ben selezionati, possa rappresentare un'efficace alternativa terapeutica e possa favorire un migliore sviluppo psicomotorio del paziente stesso¹⁹.

Più recentemente è stata valutata l'utilità di varie tecniche neuroradiologiche funzionali e metaboliche come la Diffusion-Weighted MRI, la PET con α -metil-L-Triptofano, la SPECT e la magnetoelettroencefalografia nell'individuazione dei "tubercoli epilettogeni" o dell'"area" epilettogena nei pazienti con ST, ma alcune di esse necessitano ancora di maggiori esperienze ed ulteriori validazioni¹.

Meccanismi fisiopatologici dell'epilettogenesi e della farmacoresistenza nella ST

Il Complesso Amartina-Tuberina gioca un ruolo importante nel controllo della crescita cellulare e dello sviluppo corticale, intervenendo nella morfogenesi, nella adesione/migrazione e nella differenziazione cellulare. Mutazioni in uno dei due geni TSC1 o TSC2 influenzano i precursori neuronali tra la 7^o e la 20^o settimana di gestazione e possono dare luogo ad alterazioni della divisione, della differenziazione e della migrazione cellulare. Le indagini immunoistochimiche e molecolari hanno mostrato epilettogenicità intrinseca delle popolazioni neuronali all'interno dei tubercoli corticali, suggerendo che anche le alterazioni gliali possano giocare un ruolo centrale nell'epilettogenesi^{7,8}. L'origine della crisi epilettica è verosimilmente legata ad uno sbilanciamento tra trasmissione sinaptica inibitoria ed eccitatoria, anche se la relazione tra crisi e tubercoli non è stata ancora sufficientemente caratterizzata.

In modelli animali con specifica inattivazione del gene TSC1 nella glia, si osservano crisi cliniche ed elettroencefalografiche entro i due mesi di vita con

morte intorno ai 4 mesi; l'epilettogenesi sarebbe legata ad anomalie della migrazione neuronale e della sinaptogenesi indotta dalla disfunzione degli astrociti che risulterebbero carenti nell'uptake di neurotrasmettitori eccitatori presenti nell'ambiente extracellulare, quali glutammato e potassio. Studi biochimici dimostrano infatti che nel tubero esiste una alterata espressione del RNA messaggero per l'EAAC1 (trasportatore di glutammato neuronale), il GluR (recettore per il glutammato) e il GABA_AR (recettore per il GABA) supportando l'ipotesi che le crisi possano originare nel tubero in conseguenza di una aumentata eccitabilità neuronale secondaria all'aumento della concentrazione del glutammato nell'ambiente extracellulare o a un difetto del sistema inibitorio gabaergico³⁰. L'importanza del sistema inibitorio gabaergico nella regolazione dell'eccitabilità neuronale può esser correlata alla dimostrata efficacia del Vigabatrin nel trattamento degli spasmi infantili associati alla ST⁶.

Più recentemente, sempre in modelli animali con inattivazione del gene TSC1 nelle cellule gliali, è stato dimostrato che anche elevate concentrazioni di potassio extracellulare, secondarie al difetto dei canali "inward rectifier potassium" (Kir), potrebbero determinare ipereccitabilità neuronale con precoce sviluppo di epilessia. Lo specifico meccanismo che lega il gene TSC1 con l'espressione dei canali Kir non è noto; è verosimile che la perdita dell'amartina, determinando la ridotta espressione della proteina p27^{Kip1}, alteri la differenziazione astrogliale e produca ridotta attività dei trasportatori del potassio con conseguente ipereccitabilità neuronale. La normalizzazione in vitro della densità delle correnti del potassio Kir-dipendenti negli astrociti con difetto di TSC1 grazie al trattamento con Roscovitina, suggerisce la possibilità di trials terapeutici con modulatori della via p27^{Kip1} allo scopo di prevenire o ridurre l'epilettogenesi¹⁶.

Il meccanismo responsabile della farmacoresistenza e i fattori che influenzano l'intrattabilità della epilessia nella ST non sono ancora completamente noti. La refrattarietà dell'epilessia può essere associata all'aumentata espressione delle proteine MDR-1 (*multidrug resistance 1*) e MRP-1 (*multidrug resistance-associated protein 1*), documentata nelle cellule derivanti da tubercoli epilettogeni chirurgicamente asportati in pazienti con ST ed epilessia intrattabile^{20 21}.

Correlazioni genotipo-fenotipo – (casistica della Clinica Pediatrica di Siena e della U.O. di Neuropsichiatria Infantile "Tor Vergata" di Roma)

L'analisi molecolare, eseguita in 96 casi con ST (61 sporadici e 35 familiari) ha permesso di individuare la mutazione responsabile della malattia in 70 (41 sporadici e 29 familiari); in 5 casi, tutti sporadici, non è stata individuata alcuna mutazione e nei restanti 21 casi (sporadici) l'analisi risulta ancora in corso. In 3 casi familiari, il genitore affetto presenta un quadro di mosaicismo.

Tra i 70 casi in cui è stata individuata la mutazione, 49 (35 sporadici e 14 familiari) sono dovuti a mutazione del gene TSC2, in 5 casi (4 familiari e 1 sporadico) la malattia è causata da difetto oltre che del gene TSC2 anche di specifici geni contigui e in altri 16 (5 sporadici e 11 familiari) è interessato il gene TSC1. Le mutazioni di TSC2 sono rappresentate in 48/49 da mutazioni puntiformi ed in un solo caso da una macrodelezione che determinano la formazione di una proteina tronca o comunque non funzionante. Le mutazioni di TSC1 sono tutte di tipo puntiforme ed interessano in oltre la metà dei casi gli esoni 15-17.

Tra i 49 pazienti con mutazione del gene TSC2, 40 (81,6%) presentano epilessia esordita in 24/40 (60%) con spasmi infantili e in 16/40 (40%) con crisi parziali.

Dei 24 pazienti che hanno presentato spasmi infantili, 7 hanno successivamente sviluppato crisi parziali, 5 crisi parziali e generalizzate, e uno non ha più presentato episodi critici. 11/24 (46%) di questi pazienti sono risultati farmacoresistenti (testati in media 7 farmaci). In 13/24 (54%) l'epilessia è invece farmacologicamente controllata. 3 pazienti sono attualmente in monoterapia.

Nei 16 soggetti che hanno presentato crisi parziali all'esordio, 4 pazienti (25%) hanno sviluppato epilessia farmacoresistente; in 4 casi (25%) è stata sospesa la terapia anticonvulsivante, ma in 2 casi è stata necessaria la reintroduzione del trattamento a causa della ricomparsa degli episodi critici.

Nei 5 casi con sindrome da geni contigui, 4/5 (80%) presentano epilessia, esordita solo in un caso come spasmi infantili mentre gli altri hanno presentato crisi parziali; tutti sono farmacologicamente controllati.

Tra i 16 casi con mutazioni TSC1, 13 (81,2%) presentano epilessia esordita solo in un caso con spasmi infantili e 1 (6,2%) presenta farmacoresistenza. In 3/13 (23%) è stato eseguito tentativo di sospensione della terapia anticonvulsivante, ma in due casi questa è stata reintrodotta per il ripresentarsi delle crisi.

In 4 dei 5 casi in cui non è stato possibile individuare la mutazione genetica responsabile della malattia è presente una epilessia farmacoresistente.

Per quanto riguarda il livello intellettuale, tra i pazienti con mutazione TSC2, 29/49 (59%) presentano ritardo mentale, che risulta di grave entità in 14/29 (48%); tutti i pazienti con ritardo mentale grave hanno presentato spasmi infantili. Tra i 5 pazienti con sindrome da geni contigui, 2 (40%) presentano ritardo mentale e in un caso l'epilessia è esordita come spasmi infantili. Tra i pazienti con mutazione di TSC1, 4/16 (25%) presentano ritardo intellettuale variabile da lieve a medio, nessuno presenta ritardo mentale grave; uno solo dei pazienti con ritardo mentale ha presentato spasmi infantili. 4 dei 5 pazienti, nei quali non è stata individuata la mutazione, presentano un livello intellettuale nei limiti della norma; nessuno di essi ha presentato spasmi infantili (Tab. I.)

Tab. I. Correlazioni tra fenotipo neurologico e tipo di mutazioni TSC.

| | N | Epilessia | Spasmi infantili | Ritardo mentale |
|-----------------|----|-----------|------------------|-----------------|
| TSC2 | 49 | 40 | 24 | 29 |
| TSC2-geni cont. | 5 | 4 | 1 | 2 |
| TSC1 | 16 | 13 | 1 | 4 |
| No mutazione | 5 | 4 | 0 | 1 |

Commento

Questi dati confermano il più frequente coinvolgimento del gene TSC2 rispetto al gene TSC1; tra i casi sporadici le mutazioni TSC2 sono più frequenti di quelle con TSC1 mentre le mutazioni di TSC1, prevalentemente localizzate a livello degli esoni 15-17, sono più frequenti in famiglie con più membri affetti. Anche all'interno di questa casistica l'epilessia (e in particolare gli spasmi infantili) e il ritardo mentale sembrano essere più frequentemente associati a mutazioni TSC2 piuttosto che TSC1, anche se è importante sottolineare che la presenza di spasmi infantili all'esordio dell'epilessia sembra essere un elemento determinante nello sviluppo del ritardo mentale. La migliore comprensione del ruolo di Amartina e Tuberina nei meccanismi dell'epilettogenesi consentirà non solo di stabilire più precise correlazioni genotipo-fenotipo, ma potrà indirizzare verso lo sviluppo di farmaci anticonvulsivanti più specifici per il trattamento dell'epilessia associata alla ST.

Infine l'effettuazione dell'analisi molecolare nel caso indice, la esatta definizione del difetto genico, lo studio sistematico delle famiglie con casi affetti e l'identificazione di eventuali casi paucisintomatici saranno in grado di fornire una più precisa valutazione del rischio di ripetizione della malattia e indicare la possibilità di una eventuale diagnosi prenatale.

Riassunto

La Sclerosi Tuberosa (ST) è un disordine multisistemico a trasmissione autosomica-dominante caratterizzata da un'alterazione nei processi di proliferazione e differenziazione cellulare tale da determinare la formazione di "amartomi" in vari organi e tessuti, tra cui cute, encefalo, cuore, retina, reni e polmoni. Due differenti geni possono causare indipendentemente la malattia, uno localizzato sul cromosoma 9 (TSC1) codifica per l'amartina e l'altro sul cromosoma 16 (TSC2) per la tuberina. Numerosi studi dimostrano che le due proteine interagiscono tra loro formando un complesso stabile che interviene nella regola-

zione del trasporto proteico e nei processi di proliferazione, differenziazione, adesione e migrazione cellulare. Mutazioni dei geni TSC1 o TSC2 determinano fenotipi clinici simili sebbene le mutazioni di TSC2 siano significativamente più rappresentate tra i casi sporadici e siano associate a quadri clinici più gravi. Le principali manifestazioni neurologiche della ST sono l'epilessia, spesso farmaco-resistente, il ritardo mentale e i disturbi del comportamento. La nostra esperienza indica, analogamente a quanto riportato in letteratura, il più frequente coinvolgimento del gene TSC2 rispetto al TSC1; spasmi infantili e ritardo mentale sembrano più frequentemente associati a mutazioni TSC2 piuttosto che TSC1, anche se è importante sottolineare che la presenza di spasmi infantili all'esordio dell'epilessia sembra avere un ruolo determinante nello sviluppo di ritardo mentale.

La miglior comprensione del ruolo della amartina e della tuberina nei meccanismi dell'epilettogenesi potrà fornire più precise indicazioni sul rapporto genotipo-fenotipo e favorire lo sviluppo di più specifici farmaci anticonvulsivanti.

Bibliografia

- ¹ Asano C, Chugani DC, Muzik O. *Multimodality imaging for improved detection of epileptogenic foci in Tuberous Sclerosis Complex*. *Nerology* 2000;54:1976-84.
- ² Bruni O, Cortesi F, Giannotti F. *Sleep disorders in Tuberous Sclerosis: a polysomnographic study*. *Brain Dev* 1995;17:52-6.
- ³ Christopher C, Sekhara T, Rypens F. *MRI spectrum of cortical malformation in Tuberous Sclerosis Complex*. *Brain Dev* 2000;22:487-93.
- ⁴ Crino PB. *Molecular pathogenesis of tuber formation in Tuberous Sclerosis Complex*. *J Child Neurol* 2004;19:716-25.
- ⁵ Curatolo P, Seri S, Verdecchia M. *Infantile spasms in Tuberous Sclerosis Complex*. *Brain Dev* 2001;23:502-7.
- ⁶ Curatolo P, Verdecchia M, Bombardieri R. *Vigabatrin for tuberous sclerosis*. *Brain Dev* 2001;23:649-53.
- ⁷ Curatolo P. *Tuberous sclerosis complex: from basic science to clinical phenotypes*. London: MacKeith Press 2003.
- ⁸ Curatolo P, Bombardieri R, Verdecchia M, Seri S. *Intractable seizures in Tuberous Sclerosis Complex: from molecular pathogenesis to the rational for treatment*. *J Child Neurol* 2005;20:318-25.
- ⁹ Di Mario FJ. *Brain abnormalities in Tuberous Sclerosis Complex*. *J Child Neurol* 2004;19:650-7.
- ¹⁰ Franz DN, Leonard J, Tudor C. *Oxcarbazepine therapy of epilepsy in Tuberous Sclerosis*. *J Child Neurol* 2000;16:18.
- ¹¹ Franz DN, Tudor C, Leonard J. *Topiramate therapy of epilepsy in Tuberous Sclerosis*. *Ann Neurol* 2000;48:523-4.
- ¹² Franz DN, Tudor C, Leonard J, Egelhoff JC, Byars A, Valerius K, et al. *Lamotrigine therapy of epilepsy in Tuberous Sclerosis*. *Epilepsia* 2001;42:935-40.
- ¹³ Goodman M, Lamm SH, Engel A. *Cortical tuber count: a biomarker indicating neurologic severity of Tuberous Sclerosis Complex*. *J Child Neurol* 1996;12:85-90.
- ¹⁴ Griffiths PD, Martland TR. *Tuberous Sclerosis Complex: the role of neuroradiology*. *Neuropediatrics* 1997;28:244-52.
- ¹⁵ Huerter V, Thiele EA. *The role of Levotiracetam in pediatric epilepsy and Tuberous Sclerosis Complex*. *Epilepsia* 2003;44:134.

- ¹⁶ Jansen LA, Uhlmann EJ, Crino PB. *Epileptogenesis and reduced inward rectifier potassium current in Tuberous Sclerosis Complex-1-Deficient Astrocytes*. *Epilepsia* 2005;46:1871-80.
- ¹⁷ Jones AC, Daniells CE, Snell RG, Tachataki M, Idziaszczyk SA, Krawczak M, et al. *Molecular genetic and phenotypic analysis reveal differences between TSC1 and TSC2 associated familial and sporadic Tuberous Sclerosis*. *Hum Mol Genet* 1997;6:2155-61.
- ¹⁸ Kit-Sing Au, Aimee YW, Gambello MJ. *Molecular genetic basis of Tuberous Sclerosis Complex: from bench to bedside*. *J Child Neurol* 2004;19:699-709.
- ¹⁹ Lachhwani DK, Pestana E, Gupta A, Kotagal P, Bingaman W, Wyllie E. *Identification of candidates for epilepsy surgery in patients with Tuberous Sclerosis*. *Neurology* 2005;64:1651-4.
- ²⁰ Lazarowski A, Lubieniecki F, Camarero S, Pomata H, Bartuluchi M, Sevlever G, et al. *Multidrug resistance proteins in Tuberous Sclerosis and refractory epilepsy*. *Paediatr Neurol* 2004;30:102-6.
- ²¹ Lazarowski AJ, Lubieniecki FJ, Camarero SA, Pomata HH, Bartuluchi MA, Sevlever G, et al. *New proteins configure a brain drug resistance map in Tuberous Sclerosis*. *Paediatr Neurol* 2006;34:20-4.
- ²² O'Callaghan FJ, Harris T, Joinson C. *The relation of infantile spasms, tubers, and intelligence in Tuberous Sclerosis Complex*. *Arch Dis Child* 2004;89:530-3.
- ²³ Osborne JP, Fryer A, Webb D. *Epidemiology of Tuberous Sclerosis*. *Ann NY Acad Sci* 1991;615:125-7.
- ²⁴ Parain D, Penniello MJ, Berquen P, Delangre T, Billard C, Murphy JV. *Vagal nerve stimulation in Tuberous Sclerosis Complex patients*. *Paediatr Neurol* 2001;25:213-6.
- ²⁵ Roach ES, Sparagana SP. *Diagnosis of Tuberous Sclerosis Complex*. *J Child Neurol* 2004;19:643-9.
- ²⁶ Rott HD, Lemeke B, Zenker M. *Cyst-like cerebral lesions in Tuberous Sclerosis*. *Am J Med Genet* 2002;111:435-9.
- ²⁷ Thiele EA. *Managing epilepsy in Tuberous Sclerosis Complex*. *J Child Neurol* 2004;19:680-6.
- ²⁸ Versino M, Veggiotti P. *Reversibility of Vigabatrin-induced visual-field defect*. *Lancet* 1999;354:486.
- ²⁹ Weiner DM, Ewalt DE, Roach ES, Hensle TW. *The Tuberous Sclerosis Complex: a comprehensive review*. *J Am Coll Surg* 1998;187:548-61.
- ³⁰ White R, Hua Y, Scheithauer B, Lynch DR, Henske EP, Crino PB. *Differential transcription of neurotransmitter receptor subunits and uptake sites in giant cells and dysplastic neurons in cortical tubers*. *Ann Neurol* 2001;49:67-78.