

EFFETTO DELLE CRISI PRECOCI SULLA CONNETTIVITÀ CEREBRALE IN BAMBINI CON SCLEROSI TUBEROSA: UNO STUDIO CON TENSORE DI DIFFUSIONE

Early onset seizures and brain connectivity in tuberous sclerosis: a diffusion tensor study

R. Moavero^{1,2}, A. Napolitano², R. Cusmai², F. Vigevano², L. Figà-Talamanca², G. Calbi², P. Curatolo¹, B. Bernardi²

¹ Policlinico Università Tor Vergata, Roma; ² Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

RIASSUNTO

Razionale e obiettivi. La sclerosi tuberosa (TSC) si associa a crisi ad esordio precoce, con possibilità di epilessia farmaco-resistente e ritardo cognitivo. Obiettivo dello studio è stato valutare, mediante tensore di diffusione (DTI), gli effetti delle crisi precoci sulla sostanza bianca di soggetti con TSC.

Metodi. Abbiamo arruolato 16 bambini con TSC ed epilessia esordita nei primi 3 anni, dividendoli in base alla persistenza o meno di crisi ed all'esordio prima o dopo l'anno. Tutti hanno effettuato RM encefalo con DTI. Specifiche ROIs sono state selezionate per la generazione di tracks, sulle quali sono stati calcolati i valori medi di anisotropia frazionale (FA) e coefficiente di diffusione apparente. L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA.

Risultati. I bambini con crisi persistenti e quelli con esordio nel primo anno mostrano FA globalmente più bassa, con significatività statistica a livello di tronco temporale e giro del cingolo; i bambini con esordio precoce mostrano inoltre differenze significative a livello del fascicolo fronto-occipitale inferiore.

Conclusioni. Il nostro studio dimostra che i soggetti con crisi persistenti o ad esordio più precoce presentano maggiori alterazioni della connettività cerebrale in aree cruciali per la maturazione delle funzioni esecutive, la maturazione cognitiva globale e le abilità verbali.

SUMMARY

Background and aims. Tuberous sclerosis complex (TSC) is associated with early onset epilepsy, a high rate of drug resistant seizures, and mental retardation. Aims of this study were to evaluate the effects of early onset seizures on white matter by using diffusion tensor imaging (DTI).

Methods. We enrolled 16 children with TSC and epilepsy onset in the first 3 years of life, and grouped them according to seizure persistence or freedom and according to seizure onset before or after the first year of life. All patients underwent brain MRI with DTI. Specific ROIs have been placed to generate tracks to calculate fractional anisotropy (FA) and apparent diffusion coefficient (ADC). Statistical analysis has been performed by ANOVA.

Results. Children with persistent seizures and those with seizure onset in the first year of life presented an overall reduced FA, with statistically significant differences on the temporal trunk and cingulum bundle; children with an earlier onset also presented significant differences on the inferior fronto-occipital fasciculus.

Conclusions. Our study demonstrates that children with persistent seizures or with earlier onset epilepsy present more significant alterations of brain connectivity in areas crucial for executive functions, global cognitive maturation and verbal abilities.

INTRODUZIONE

La sclerosi tuberosa (TSC) è una sindrome neurocutanea a trasmissione autosomica dominante che sia socia ad epilessia nell'85% dei casi ¹. In circa due terzi dei casi le crisi si presentano già nel primo anno di vita, e questi bambini sono maggiormente a rischio

di andare incontro ad epilessia farmaco-resistente, ritardo cognitivo e disturbi dello spettro autistico ². Anche se la presenza di ritardo cognitivo nella sclerosi tuberosa è una condizione multifattoriale, la presenza di crisi resistenti al trattamento farmacologico è associata ad una maggior quota di ritardo cognitivo e disturbi comportamentali, e l'età all'esordio delle crisi

PAROLE CHIAVE

Sclerosi tuberosa - Epilessia - DTI

KEY WORDS

Tuberous sclerosis - Epilepsy - DTI

è l'unico fattore di rischio indipendente³. Il verificarsi di crisi ripetute in un'epoca precoce di sviluppo porta ad alterazioni dei processi di sinaptogenesi, di mielinizzazione e di plasticità sinaptica⁴, ma non esistono metodi per valutare in vivo tali effetti né strumenti in grado di valutare l'entità del "danno" dovuto al ripetersi di crisi. Negli ultimi anni sono aumentati i dati che sottolineano l'importanza della sostanza bianca nel determinare il fenotipo neurologico e neurocognitivo. Per questo motivo abbiamo voluto focalizzare la nostra attenzione sulla sostanza bianca e sulla connettività, studiandola con una metodica di risonanza magnetica nota come tensore di diffusione. Per cercare di rispondere almeno in parte ad alcuni di questi interrogativi abbiamo effettuato diverse linee di ricerca:

1. Valutazione della sostanza bianca in soggetti con persistenza delle crisi versus soggetti con libertà da crisi da almeno 12 mesi.

In questa seconda linea di ricerca abbiamo voluto confrontare la sostanza bianca di bambini con persistenza di crisi al momento della valutazione e bambini con libertà da crisi da almeno 12 mesi per ricercare differenze nei valori di FA e ADC suggestive di alterazioni della connettività nei bambini con persistenza di crisi, ipotizzando che in questi siano presenti anomalie più diffuse.

2. Valutazione della sostanza bianca in soggetti con esordio crisi nel primo anno di vita versus soggetti con esordio successivo.

In questa linea di ricerca abbiamo voluto valutare se i bambini con esordio delle crisi nel primo anno di vita presentano delle anomalie di connettività della sostanza bianca cerebrale più accentuate rispetto ai bambini con esordio nel secondo e terzo anno di vita.

MATERIALI E METODI

Soggetti arruolati

In questo studio prospettico iniziato a ottobre 2012 abbiamo arruolato tutti i bambini con TSC ed epilessia ad esordio precoce che dovevano sottoporsi a RM encefalo nell'ambito del programma di follow-up periodico previsto per la patologia e seguiti presso l'UOC di Neuropsichiatria Infantile del Policlinico Universitario di Tor Vergata o presso il reparto di

Neurologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù. Sono stati inclusi tutti i bambini con esordio di crisi nei primi 3 anni di vita, da noi seguiti dall'esordio o di cui avessimo a disposizione il materiale clinico necessario per una corretta definizione del fenotipo epilettico all'esordio. I criteri di esclusione erano: (1) unico episodio critico; (2) trattamento (in atto o pregresso) con inibitori mTOR; (3) pregressi interventi neurochirurgici (di chirurgia dell'epilessia o asportazione di SEGA); (4) idrocefalo in atto al momento dell'esame.

Per tutti i bambini arruolati nello studio è stata condotta una approfondita anamnesi fisiologica e patologica, con particolare riferimento all'esordio delle crisi, alla loro semeiologia e al loro trattamento iniziale. Tutti i bambini hanno effettuato un video-EEG di veglia e sonno al momento dell'arruolamento, e una valutazione neuropsicologica completa.

Acquisizione delle immagini e postprocessing

La RM encefalo è stata effettuata in tutti i bambini presso il Dipartimento di Neuroradiologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù. Le acquisizioni sono state effettuate con un macchinario Siemens Skyra 3T con un gradiente massimo per ciascun asse di 45 mT/m e una velocità massima di 200 T/m/s e con bobina a 20 canali. Oltre alle sequenze utilizzate nella normale pratica clinica sono state acquisite sequenze per tensore di diffusione a 64 direzioni. I dati grezzi sono stati corretti per i movimenti del capo e per le correnti eddy prima di generare le mappe di anisotropia frazionale (FA) e di coefficiente di diffusione apparente (ADC) e la trattografia. Le tracks sono state generate posizionando manualmente le ROIs a livello di corpo calloso, il tronco temporale (TT) destro e sinistro, il fascicolo fronto-occipitale inferiore (IFO) destro e sinistro, il giro del cingolo destro e sinistro, il braccio anteriore (ALIC) e posteriore (PLIC) della capsula interna destra e sinistra, la capsula esterna (EC) destra e sinistra, talami e putamen bilaterali, il fornice, i peduncoli cerebrali (CP) e i peduncoli cerebellari superiore (SCP) e medio (MCP) destro e sinistro. Per ogni track elaborata sono stati calcolati i valori medi di FA e di ADC. Le tracks sono state elaborate utilizzando TrackVis per Mac, versione 0.5.2.2 e Diffusion Toolkit.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata applicando una analisi della varianza multivariata (ANOVA). Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando lo *Statistics Package for the Social Sciences software* (SPSS), versione 18.0.0 per Windows. Il valore di p è stato considerato statisticamente significativo se inferiore a 0,05.

RISULTATI

Demografici

Da ottobre 2012 a maggio 2014 sono stati selezionati 21 bambini con epilessia ad esordio precoce e una RM encefalo in programma nel periodo di tempo previsto dallo studio. Tre bambini sono stati esclusi dallo studio a priori (1 assunzione di inibitori mTOR, 2 chirurgia dell'epilessia). Dei 18 soggetti che sono stati sottoposti al protocollo d'esame 2 sono stati esclusi per problemi tecnici. L'età media dei 16 bambini studiati (9F, 7M) è risultata di 52 mesi (range 9 mesi - 7 anni e 11 mesi). Sei bambini presentavano una mutazione sul gene TSC2, due

sul gene TSC1, in due casi la mutazione non è stata individuata e negli altri sei casi la genetica non era ancora disponibile al momento della valutazione. Sette dei 16 bambini hanno presentato spasmi, mentre gli altri 9 hanno presentato solamente crisi focali. Dieci bambini hanno avuto un esordio delle crisi nel primo anno di vita, gli altri sei nei due anni successivi. Otto bambini erano liberi da crisi da almeno 12 mesi al momento della valutazione, gli altri otto presentavano ancora episodi critici, e tutti tranne uno assumevano uno o due farmaci antiepilettici. Lo sviluppo cognitivo è apparso normale in 10 dei 16 bambini, ma è da segnalare che 3 di questi hanno meno di 3 anni.

Crisi persistenti vs libertà da crisi

Il gruppo di soggetti liberi da crisi presenta valori di FA più elevati in tutte le aree esplorate, con differenze statisticamente significative a livello del cingolo destro ($p = 0,016$) e sinistro ($p = 0,027$) dei peduncoli cerebellari superiori destro ($p = 0,017$) e sinistro ($p = 0,019$), della capsula esterna di destra ($p = 0,038$) e del tronco temporale destro ($p = 0,049$) e sinistro ($p = 0,016$) (Fig. 1).

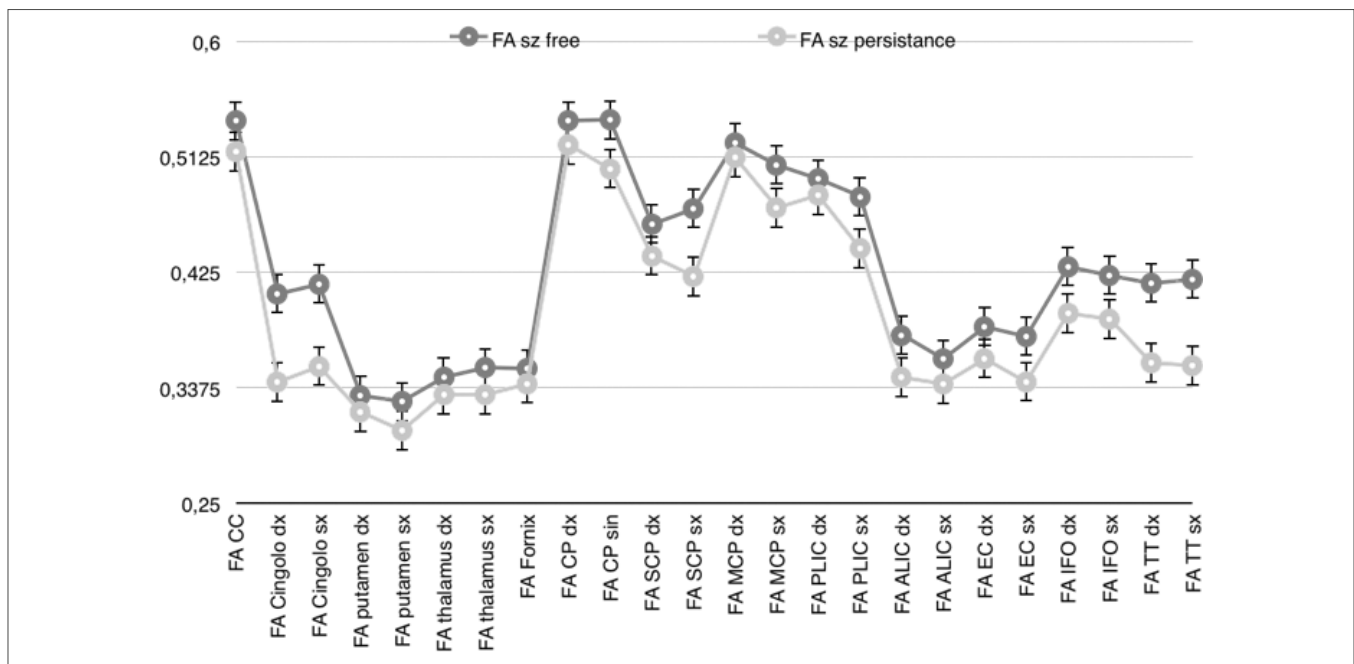


Fig. 1. Valori medi dell'anisotropia frazionale (FA) nelle diverse aree esaminate nei bambini con libertà da crisi confrontati con bambini con crisi persistenti.

I valori di ADC appaiono più elevati nel gruppo di soggetti con persistenza di crisi in tutte le aree, con molte differenze statisticamente significative: giro del cingolo destro ($p = 0,020$) e sinistro ($p = 0,019$), putamen destro ($p = 0,019$), putamen sinistro ($p = 0,032$), talamo sinistro ($p = 0,044$), peduncolo cerebrale destro ($p = 0,036$) e sinistro, ($p = 0,034$) braccio posteriore della capsula interna di destra ($p = 0,020$) e di sinistra ($p = 0,022$), braccio anteriore della capsula interna di destra ($p = 0,008$) e di sinistra ($p = 0,033$), capsula esterna destra ($p = 0,037$) e sinistra ($p = 0,016$), fascicolo fronto-occipitale inferiore destro ($p = 0,031$), tronco temporale destro ($p = 0,035$) e sinistro ($p = 0,046$).

Esordio prima e dopo il primo anno di vita

I bambini con esordio delle crisi nel primo anno di vita mostrano dei valori di FA più bassi in tutte le aree esplorate fatta eccezione del peduncolo cerebellare medio di destra, con differenze statisticamente significative a livello del giro del cingolo sinistro ($p = 0,010$), del tronco temporale destro ($p = 0,037$)

e sinistro ($p = 0,039$), e del fascicolo fronto-occipitale inferiore destro ($p = 0,035$) (Fig. 2).

Per quanto riguarda invece i valori di ADC i bambini con esordio delle crisi nel primo anno di vita hanno dei valori di ADC più elevati in tutte le aree esplorate, anche in questo caso con l'eccezione del peduncolo cerebellare medio di destra. Tali differenze sono apparse statisticamente significative a livello del corpo calloso ($p = 0,026$), del putamen sinistro ($p = 0,048$), del fornice ($p = 0,048$), del braccio posteriore della capsula interna di sinistra ($p = 0,047$), della capsula esterna di sinistra ($p = 0,032$) e del tronco temporale sinistro ($p = 0,038$).

DISCUSSIONE

Le nuove metodiche di neuroimmagini sono sempre più impiegate in neurologia pediatrica e anche nella TSC. Il nostro è però il primo studio ad impiegare tali tecniche allo scopo di rilevare dei biomarker correlati al fenotipo epilettico in caso di crisi ad esordio precoce.

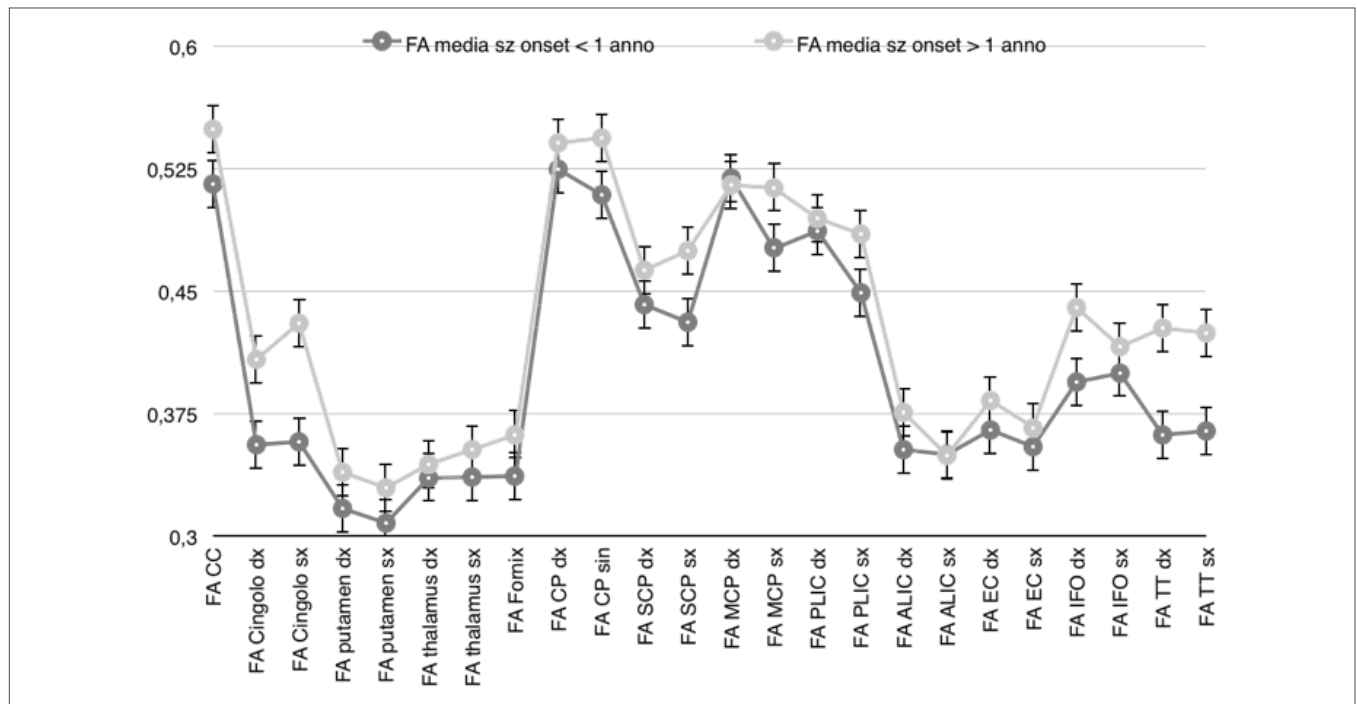


Fig. 2. Valori medi dell'anisotropia frazionale (FA) nelle diverse aree esaminate nei bambini con crisi esordite nel primo anno di vita confrontati con bambini con crisi ad esordio più tardivo.

La FA è risultata globalmente ridotta in tutti i soggetti con persistenza delle crisi al momento della valutazione. Questo suggerisce quindi che la persistenza di crisi determini una progressiva alterazione della sostanza bianca con anomalie della connettività evidenziabili praticamente in ogni area cerebrale. Tale riscontro è ancora più importante se si considera che degli 8 bambini con persistenza di crisi al momento della valutazione un solo bambino presentava crisi quotidiane, 3 presentavano crisi plurimensili, 3 crisi sporadiche (pochi episodi per anno) ed un bambino solamente crisi elettroencefalografiche. Questo sottolinea che non è necessaria una encefalopatia epilettica o la presenza di crisi resistenti pluriquotidiane per creare dei danni cerebrali, in questo caso evidenziabili come una alterata connettività intra ed interemisferica.

Una normale mielinizzazione è di importanza fondamentale per un corretto neurosviluppo in quanto permette una veloce ed efficace comunicazione tra neuroni⁵. La sostanza bianca ha sicuramente un ruolo fondamentale nello sviluppo cognitivo anche se il legame preciso tra il grado di mielinizzazione, la connettività e le abilità cognitive non è del tutto chiarito. Un recente studio ha riscontrato che l'integrità della sostanza bianca al di sotto delle cortecce frontale e temporale è importante per lo sviluppo delle abilità verbali sia ricettive che espressive⁵. Un altro studio ha invece messo in luce che il giro del cingolo ha un ruolo nella maturazione delle funzioni esecutive e il fascicolo fronto-occipitale inferiore interviene nella maturazione cognitiva globale favorendo lo sviluppo della velocità di processamento⁶. Inoltre alcune aree quali il braccio anteriore della capsula interna e i peduncoli cerebrali appaiono alterate in bambini con ADHD, e anomalie del giro del cingolo sono state riscontrate in bambini con autismo⁷. Possiamo quindi dedurre che i bambini con TSC, crisi ad esordio precoce e persistenza di epilessia che mostrano una alterata connettività a livello di aree quali il giro del cingolo, il tronco temporale e in misura minore del fascicolo fronto-occipitale inferiore, dei peduncoli cerebrali e del braccio anteriore della capsula interna (in cui solo l'ADC mostra differenze statisticamente significative) presentano un rischio maggiore di ridotte abilità verbali, deficit nelle funzioni esecutive, ADHD,

autismo e di un ritardo globale delle abilità cognitive. Finora un unico studio aveva dimostrato una alterata connettività in soggetti con epilessia in fase attiva confrontati con soggetti con epilessia in remissione, dimostrando anche che questi ultimi non differivano da soggetti di controllo, suggerendo quindi una possibile reversibilità del danno, fatto indirettamente suggerito anche dai nostri dati⁸.

Le crisi ad esordio precoce nella TSC sono un significativo fattore di rischio per lo sviluppo successivo di crisi resistenti e di ritardo cognitivo. Diversi studi avevano identificato come fattore di rischio principale le crisi ad esordio nel primo anno di vita; uno studio retrospettivo su una coorte di pazienti molto ampia ha confermato che le crisi in una fase molto precoce della vita sono associate con un aumentato rischio di sequele neurocognitive, dimostrando però che i bambini con epilessia ad esordio nel primo anno di vita non mostravano un rischio maggiore². Essendo questi dati basati solo su un'analisi retrospettiva, abbiamo voluto verificare se esistevano delle differenze in termini di integrità della sostanza bianca tra bambini con esordio delle crisi nel primo anno di vita e bambini con esordio nei due anni successivi. In effetti i nostri risultati sono apparsi interessanti, in quanto i bambini con esordio nel primo anno di vita mostravano una connettività cerebrale globalmente più alterata rispetto agli altri, evidenziabile come ridotti valori di FA e aumentati valori di ADC. In particolare le aree maggiormente colpite sono risultate il tronco temporale, il giro del cingolo e il fascicolo fronto-occipitale inferiore. Considerando quanto spiegato prima possiamo quindi concludere che i bambini con esordio più precoce delle crisi, cioè con epilessia nel primo anno di vita, hanno delle anomalie più significative della sostanza bianca, soprattutto in aree fondamentali per il corretto sviluppo delle abilità verbali, delle funzioni esecutive e delle capacità cognitive globali. Charamente questi risultati potrebbero essere influenzati dal fatto che nella nostra serie di pazienti i bambini con esordio più precoce delle crisi presentavano più frequentemente una persistenza di crisi, e appare difficile discriminare in che quantità le alterazioni della connettività siano dovute all'esordio precoce o alla persistenza delle crisi.

Bibliografia

- ¹ Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S. *Tuberous sclerosis*. *Lancet* 2008;372:657-68.
- ² Chu-Shore CJ, Major P, Camposano S, et al. *The natural history of epilepsy in tuberous sclerosis complex*. *Epilepsia* 2010;51:1236-41.
- ³ Jansen FE, Vincken KL, Algra A, et al. *Cognitive impairment in tuberous sclerosis complex is a multifactorial condition*. *Neurology* 2008;70:916-23.
- ⁴ Galanopoulou AS, Moshe SL. *The epileptic hypothesis: developmentally related arguments based on animal models*. *Epilepsia* 2009;50(Suppl 7):37-42.
- ⁵ O'Muircheartaigh J, Dean DC, Ginestet CE, et al. *White matter development and early cognition in babies and toddlers*. *Hum Brain Mapp* 2014;35:4475-87.
- ⁶ Peters BD, Ikuta T, DeRosse P, et al. *Age-related differences in white matter tract microstructure are associated with cognitive performance from childhood to adulthood*. *Biol Psychiatry* 2014;75:248-56.
- ⁷ Ashtari M, Kumra S, Bhaskar SL, et al. *Attention-deficit/hyperactivity disorder: a preliminary diffusion tensor imaging study*. *Biol Psychiatry* 2005;57:448-55.
- ⁸ Amarreh I, Dabbs K, Jackson DC, et al. *Cerebral white matter integrity in children with active versus remitted epilepsy 5 years after diagnosis*. *Epilepsy Res* 2013;107:263-71.

CORRISPONDENZA

Romina Moavero, Policlinico Università Tor Vergata, viale Oxford 81, 00133 Roma - E-mail: rominamoavero@hotmail.com