

LE EPILESSIE E LA GENETICA

Dott. Emanuele Bartolini



EPILESSIA

- Almeno due crisi non provocate
- Una crisi, spontanea o provocata, con rischio di ulteriore crisi del 60%
- Diagnosi di sindrome epilettica

A practical clinical definition of epilepsy

***Robert S. Fisher, †Carlos Acevedo, ‡Alexis Arzimanoglou, §Alicia Bogacz, ¶Helen Cross,
#Christian E. Elger, **Jerome Engel Jr, ††Lars Forsgren, ‡‡Jacqueline A. French, §§Mike
Glynn, ¶¶Dale C. Hesdorffer, ###B. I. Lee, ***Gary W. Mathern, †††Solomon L. Moshé,
‡‡‡Emilio Perucca, §§§Ingrid E. Scheffer, ¶¶¶Torbjörn Tomson, ####Masako Watanabe, and
****Samuel Wiebe**

Epilepsia, **(*)1-8, 2014
doi: 10.1111/epi.12550

Diagnosi di sindrome epilettica

- Semeiologia
- Comorbidità
- Elettroencefalogramma
- Neuroimaging
- Diagnostica molecolare e genetica

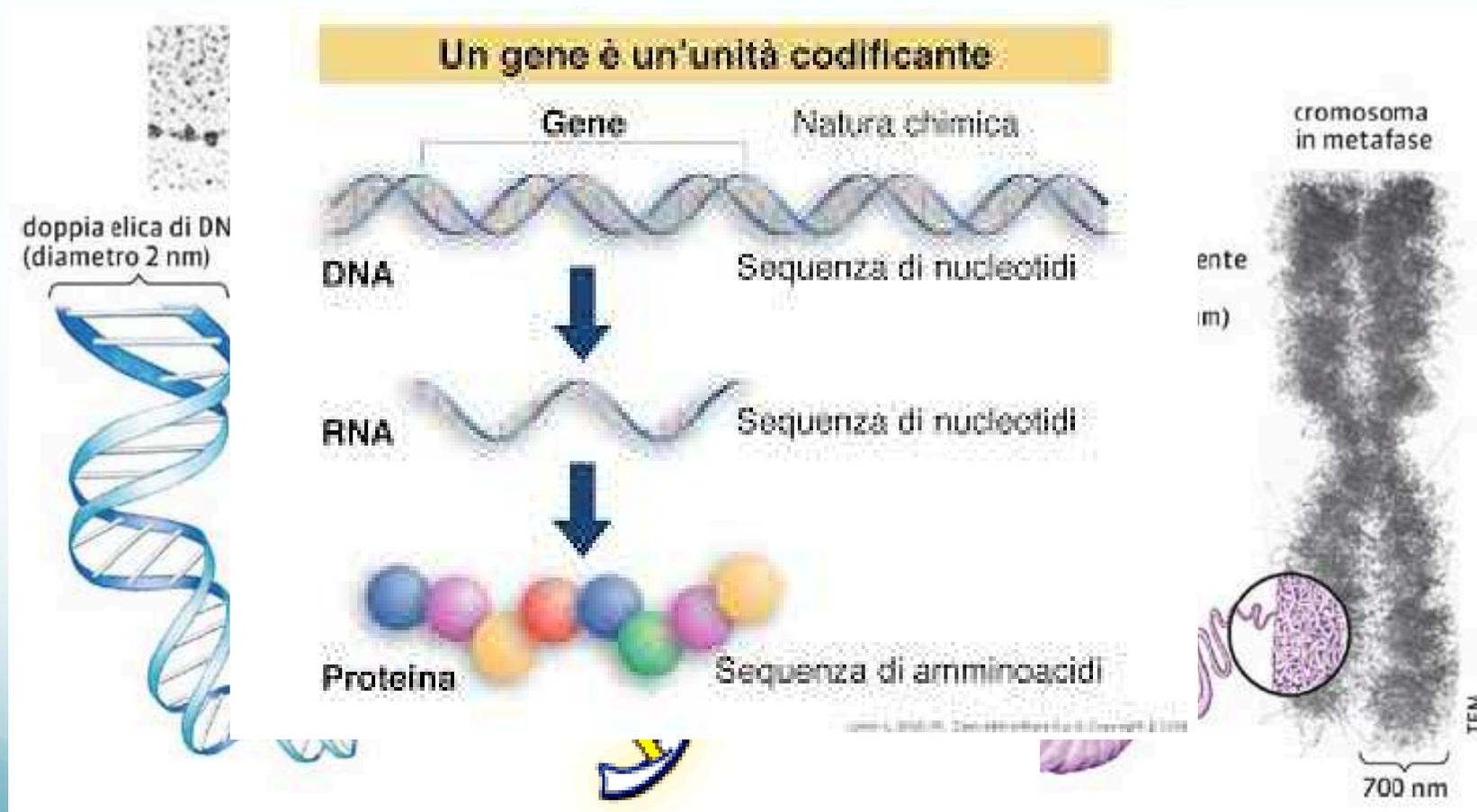
LA GENETICA



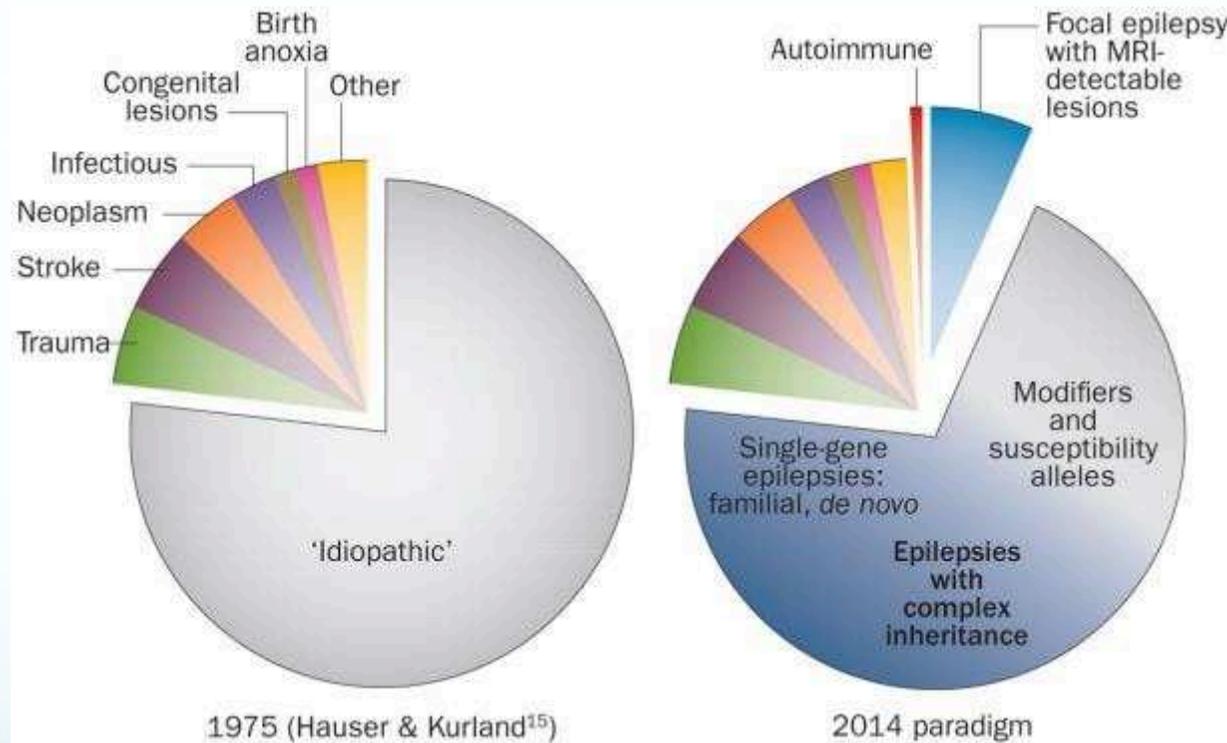
γένεσις: “origine”

Ramo della biologia che studia la generazione degli esseri viventi e la trasmissione dei caratteri ereditari

Cromosomi e informazione genetica



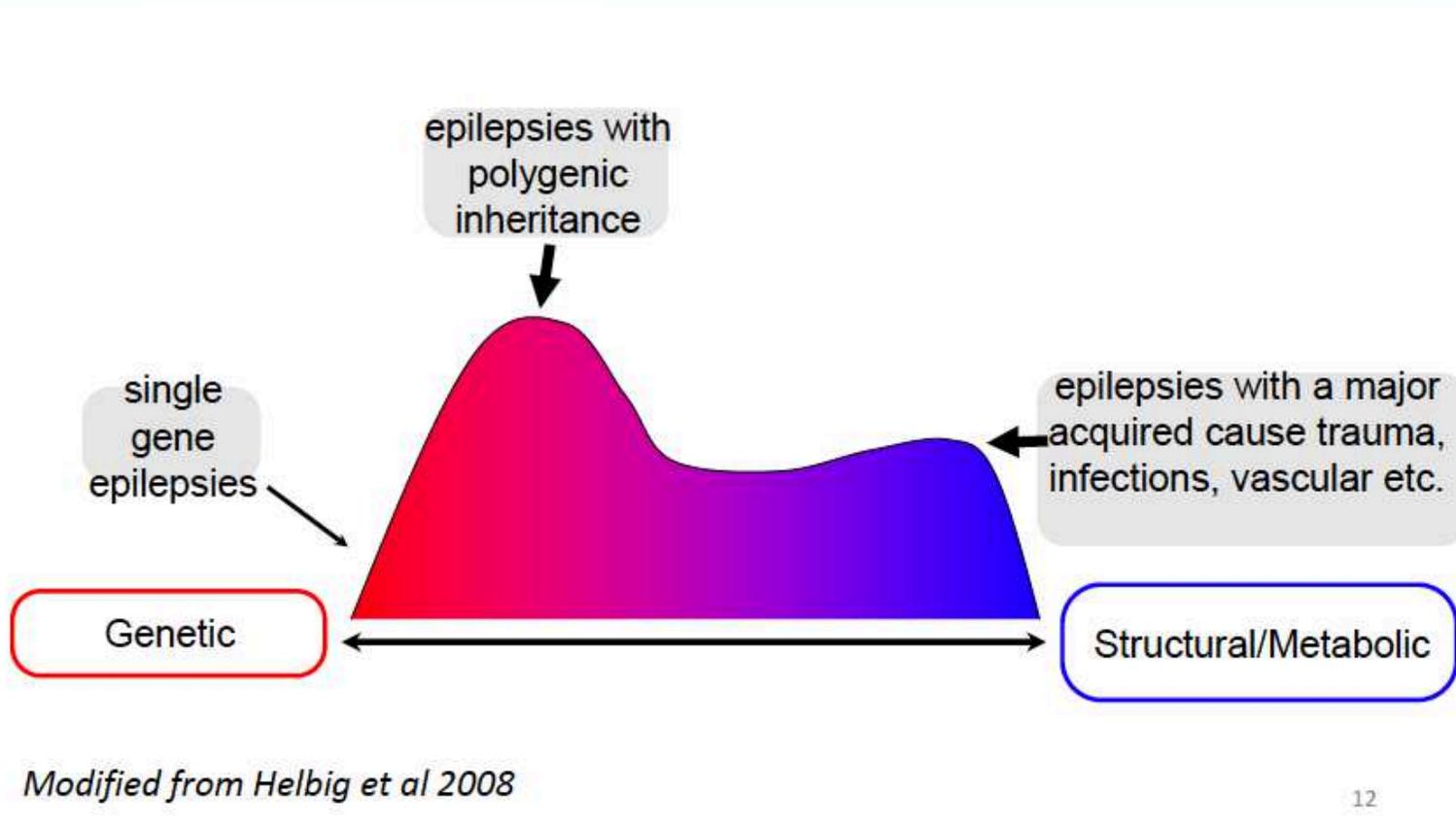
Quanto è importante la genetica nelle epilessie?



Thomas, R. H. & Berkovic, S. F. (2014)
The hidden genetics of epilepsy—a clinically important
new paradigm

Nat. Rev. Neurol. doi:10.1038/nrneuro.2014.62

Lo spettro neurobiologico delle epilessie



Epilessia e familiarità

STUDI DI AGGREGAZIONE FAMILIARE

Rischio di ricorrenza in parenti di primo grado

Syndrome	Monozygous	Dizygous
Epilessia Generalizzata Idiopatica (n = 89)	0.73	0.33
Epilessia focale (n = 103)	0.34	0.64
Convulsioni febbrili Febrile (n = 180)	0.60	0.14

2.5
 4-9 p = 0.0001
 2-3 p = 0.002
 3-5 p = 0.0001

Cosa influenza il rischio di “ereditare” l’epilessia?

- TIPO DI EPILESSIA
- CAUSA DELL’EPILESSIA
- ETA’ DI ESORDIO
- MADRE O PADRE CON EPILESSIA

Quale meccanismo genetico?

- Mutazioni in singoli geni
- Interazioni fra geni e ambiente
- Malattie metaboliche ereditabili
- Sindromi genetiche
- Malattie mitocondriali
- Aberrazioni cromosomiche

EREDITATE

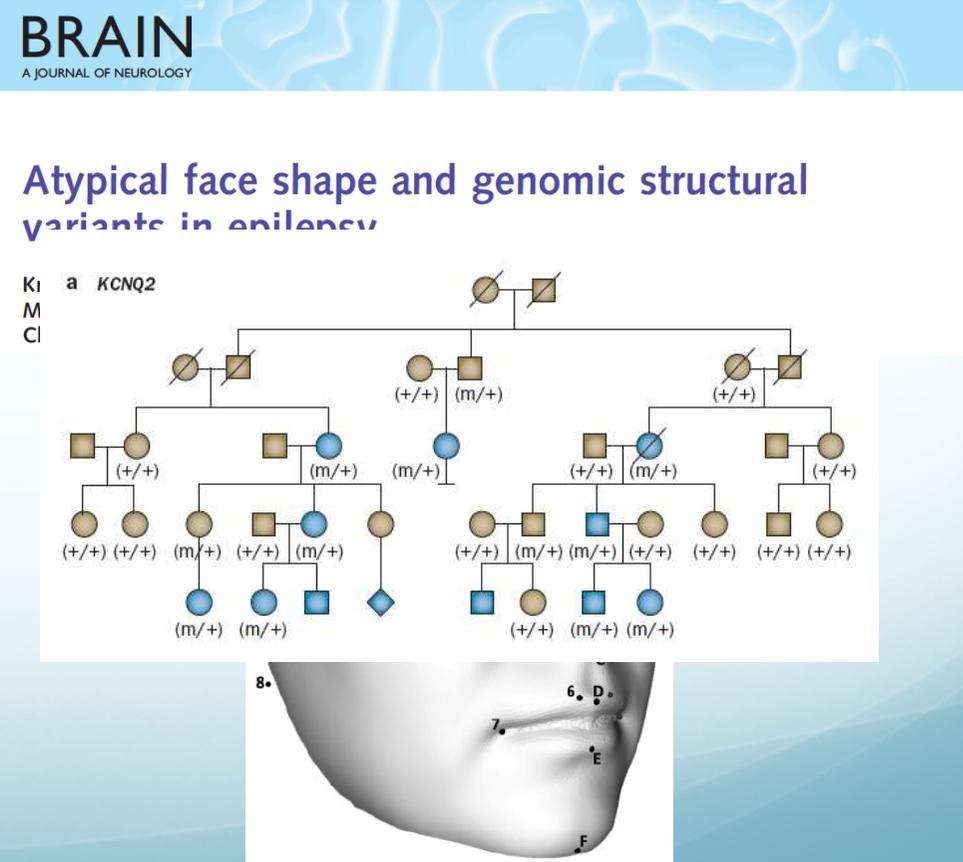
DE NOVO

MUTAZIONI SOMATICHE E MUTAZIONI GERMINALI

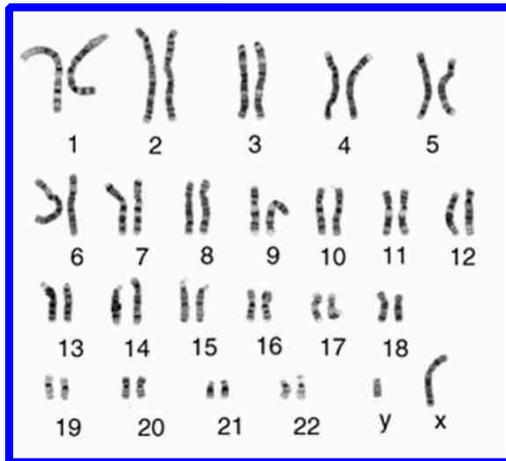
- **Linea Germinale:** le cellule che danno origine ai gameti (spermatozoi o cellule uovo). Le mutazioni nelle cellule della linea germinale verranno ereditate dalla generazione successiva
- **Linea Somatica:** le cellule che danno origine a tessuti ed organi. Non ereditate dalla generazione successiva

Quando approfondire con esami genetici?

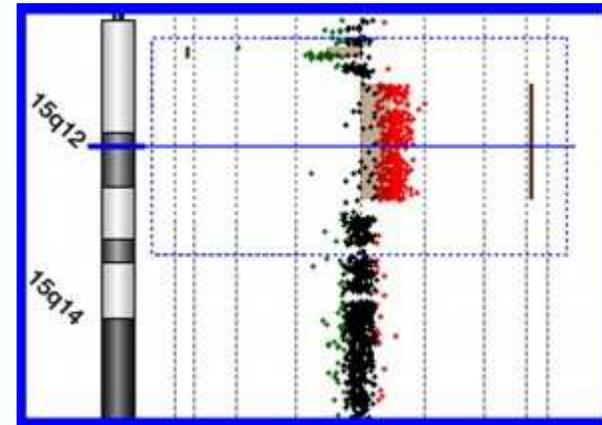
- Storia familiare
- Età di esordio
- Tratti dismorfici
- EEG
- Forme sindromiche
- Comorbidità



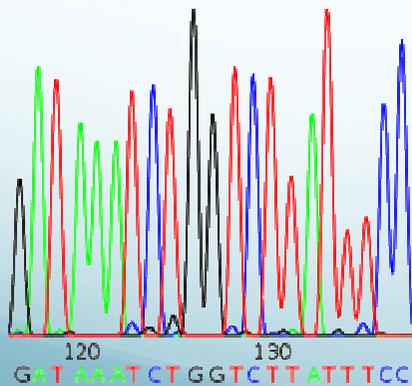
Che esami fare?



Cariotipo



ArrayCGH
1000X resolution

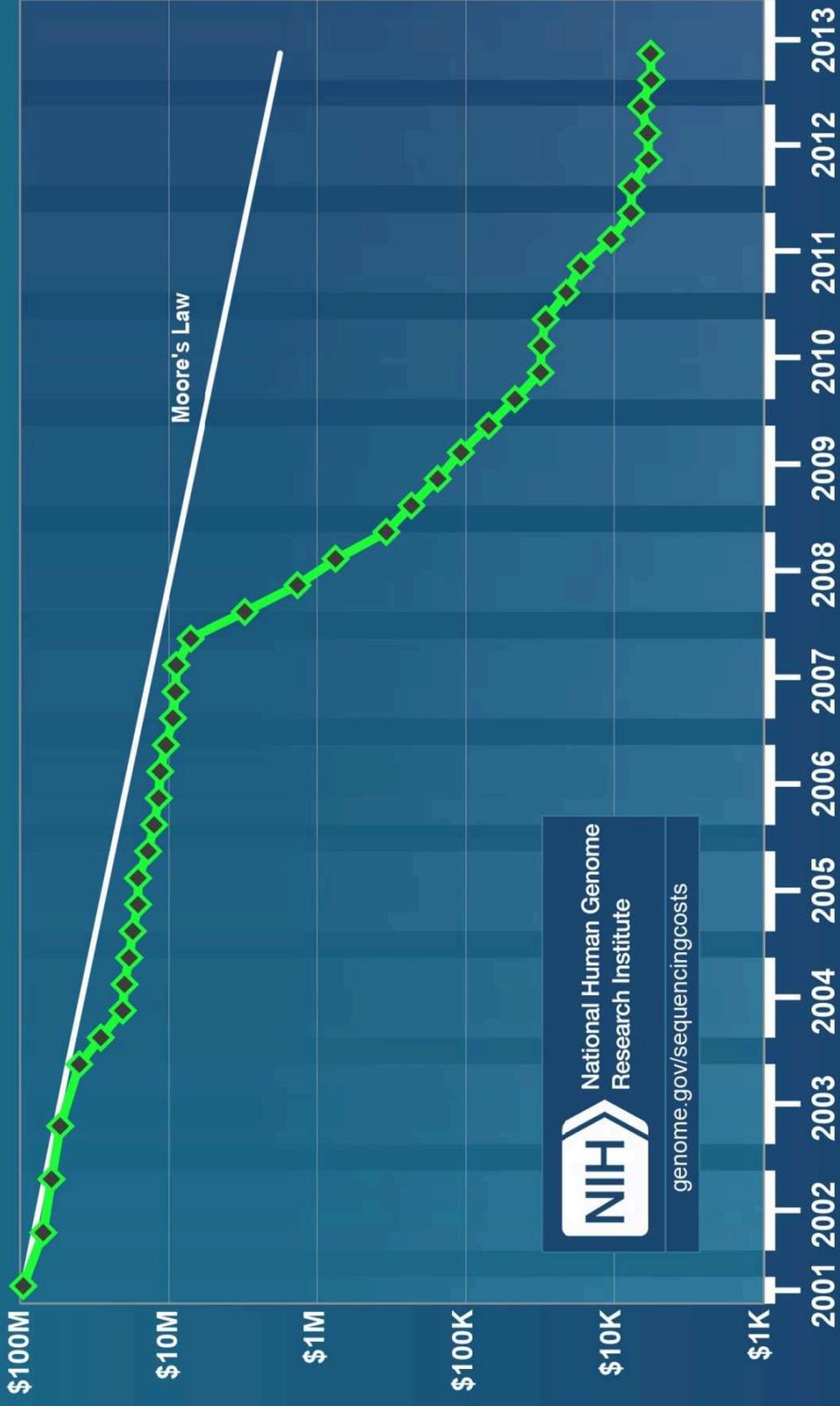


Sequenziamento Sanger



Sequenziamento next
generation

Cost per Genome



NIH
National Human Genome
Research Institute
genome.gov/sequencingcosts

De novo mutations in epileptic encephalopathies

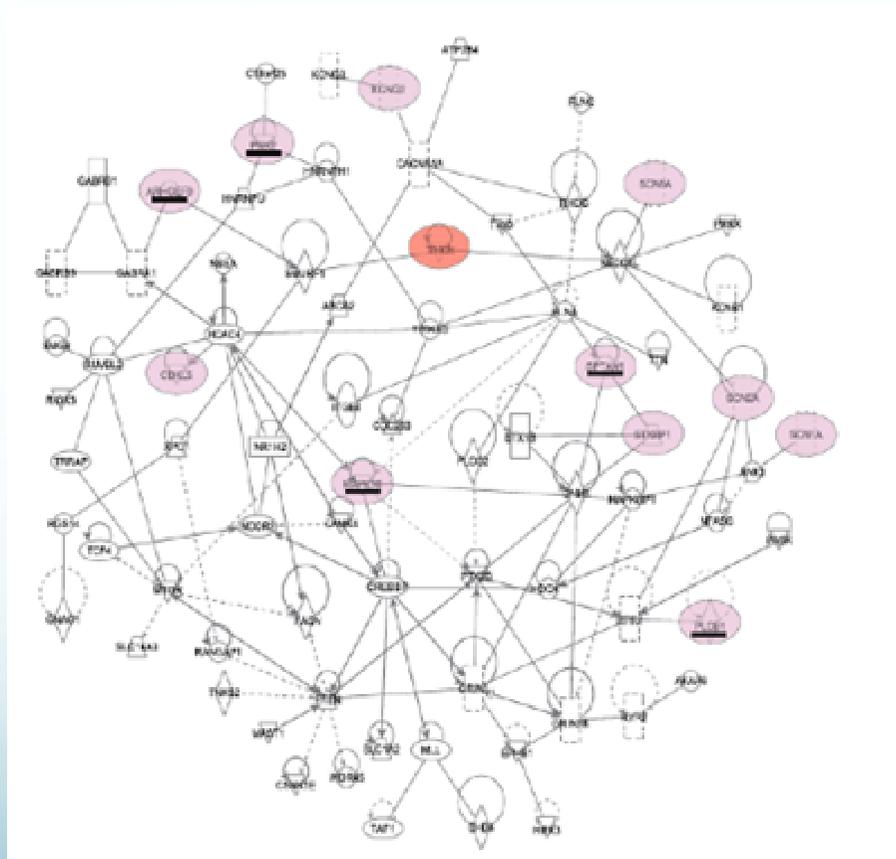
Epi4K Consortium* & Epilepsy Phenome/Genome Project*

Sequenziamento esoma di 264 probandi e relativi genitori

329 mutazioni de novo

Nessun gene a comune fra fenotipi simili

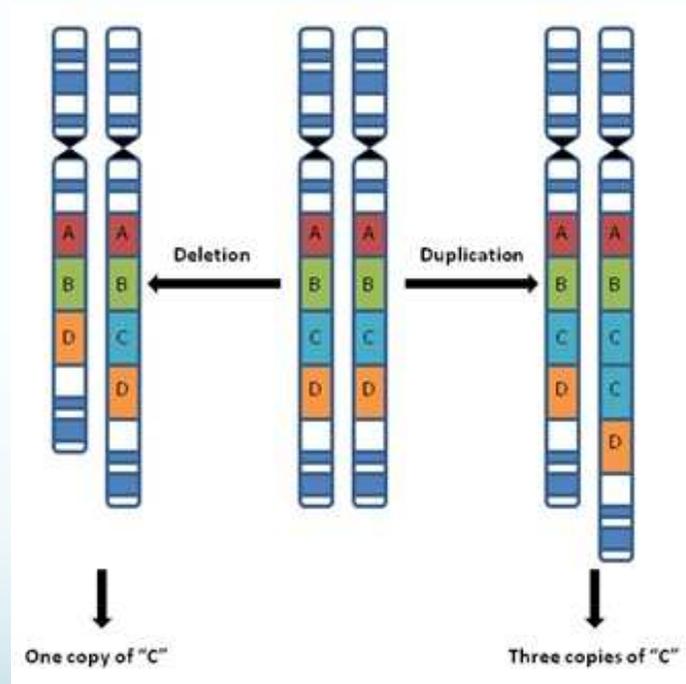
Mutazioni “private”



“SORPRESE GENOMICHE” 2014

- 1. COPY NUMBER VARIANTS**
- 2. MUTAGENESI DE NOVO**
- 3. EPILESSIE FOCALI MONOGENICHE**
- 4. ETEROGENEITA' FENOTIPICA DELLE SINDROMI
EPILETTICHE**

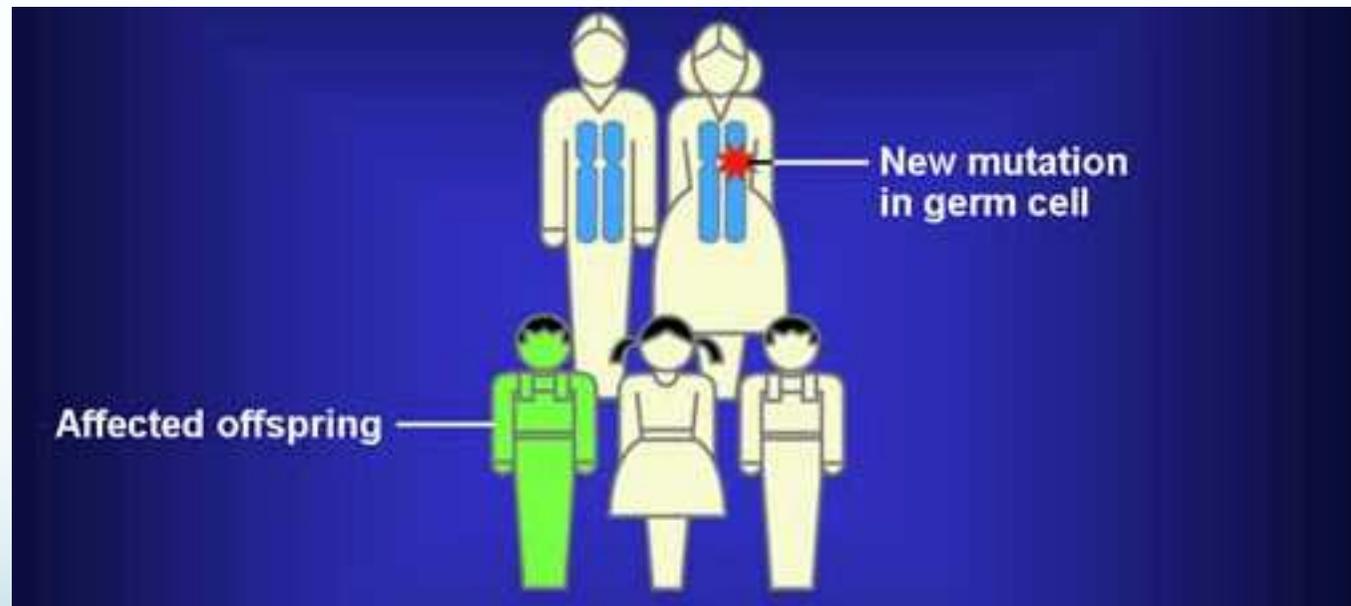
COPY NUMBER VARIANTS



SCIENTIFIC COMMENTARY**Copy number variants—an unexpected risk factor for the idiopathic generalized epilepsies**

- Riarrangiamenti submicroscopici, invisibili al cariotipo
- Possono spiegare il 15% dei casi di disabilità intellettiva
- Possono ricorrere in loci specifici
- Microdelezione 15q13.3 associata ad epilessia con tratti distrofici e ritardo mentale, ma anche a schizofrenia e fino al 1% delle Epilessie Generalizzate Idiopatiche
- Variabilità fenotipica analoga per microdelezione 15q11.2 e 16p13.11

MUTAGENESI DE NOVO

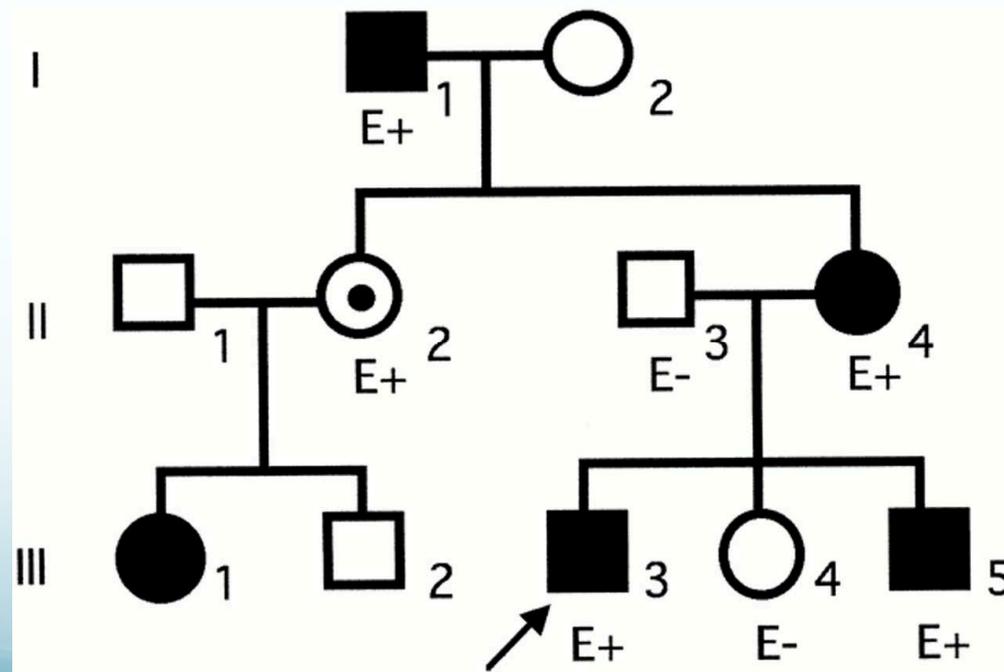


EPILESSIE FOCALI MONOGENICHE

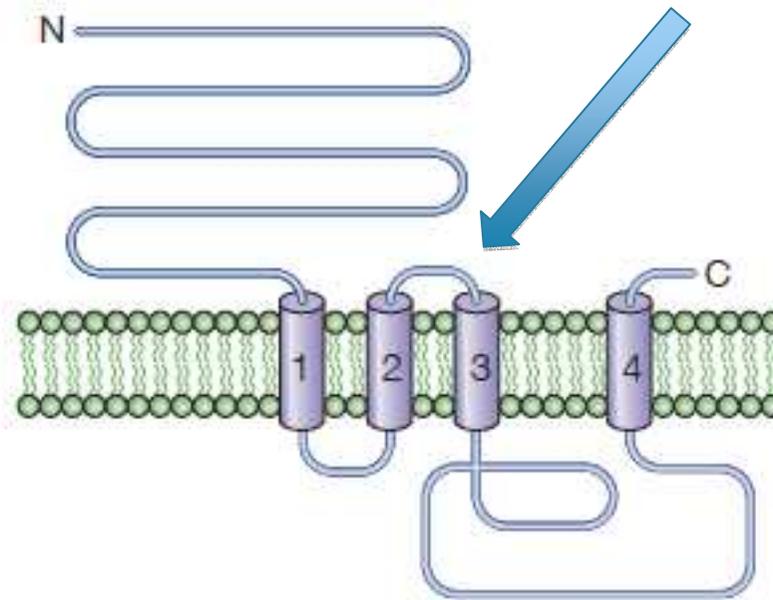
EPILESSIA AUTOSOMICO-DOMINANTE NOTTURNA DEL LOBO FRONTALE

Prima forma di epilessia su base genetica riconosciuta (1995)

“CANALOPATIA”

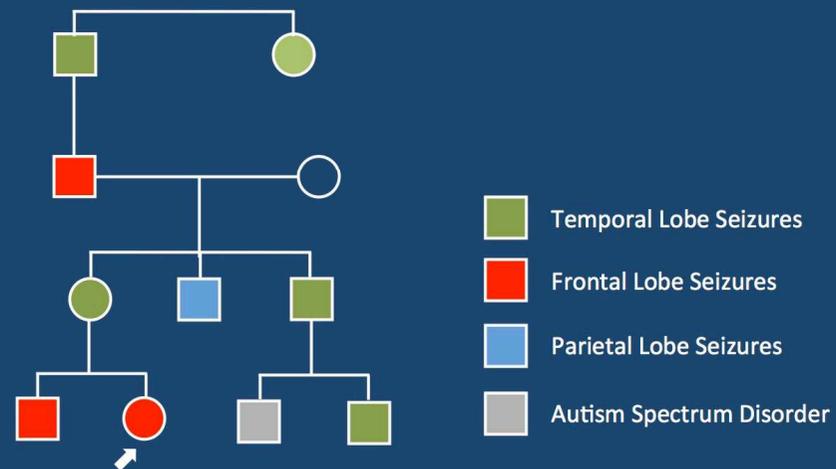


EPILESSIA AUTOSOMICO-DOMINANTE NOTTURNA DEL LOBO FRONTALE



EPILESSIA FOCALE FAMILIARE CON FOCI VARIABILI

DEPDC5 mutations and Familial Focal Epilepsy with Variable Foci (Dibbens et al., 2013)



ETEROGENEITA' FENOTIPICA

MUTAZIONI GLUT1

- Principale trasportatore di glucosio nel cervello. Mutazioni associate a severe encefalopatie
- Sorprendentemente GLUT1 può essere mutato in epilessie lievi e in forme non epilettiche (distonia parossistica)
- Ricontrate mutazioni familiari e de novo in epilessie generalizzate idiopatiche

MUTAZIONI DE NOVO ED EREDITARIETA' COMPLESSA

SINDROME DI DRAVET

- Nel 70-80% dei casi è mutato SCN1A
- **Nel 95% dei casi la mutazione è de novo**

Quadro clinico

Primo anno di vita (dai 6 mesi): convulsioni febbrili atipiche. EEG normale

Secondo anno di vita: crisi miocloniche, crisi generalizzate tonico-cloniche, rare assenze atipiche. EEG con punta-onda generalizzate. Regressione cognitiva.

“ENCEFALOPATIA VACCINICA”

- Sviluppo improvviso di crisi epilettiche e regressione cognitiva
- Possibile associazione con componente pertussica vaccino DTP?
- Vaccinazione somministrate a 2-4-6 mesi e spesso associata a febbre

SINDROME DI DRAVET ED “ENCEFALOPATIA VACCINICA”



De-novo mutations of the sodium channel gene SCN1A in alleged vaccine encephalopathy: a retrospective study

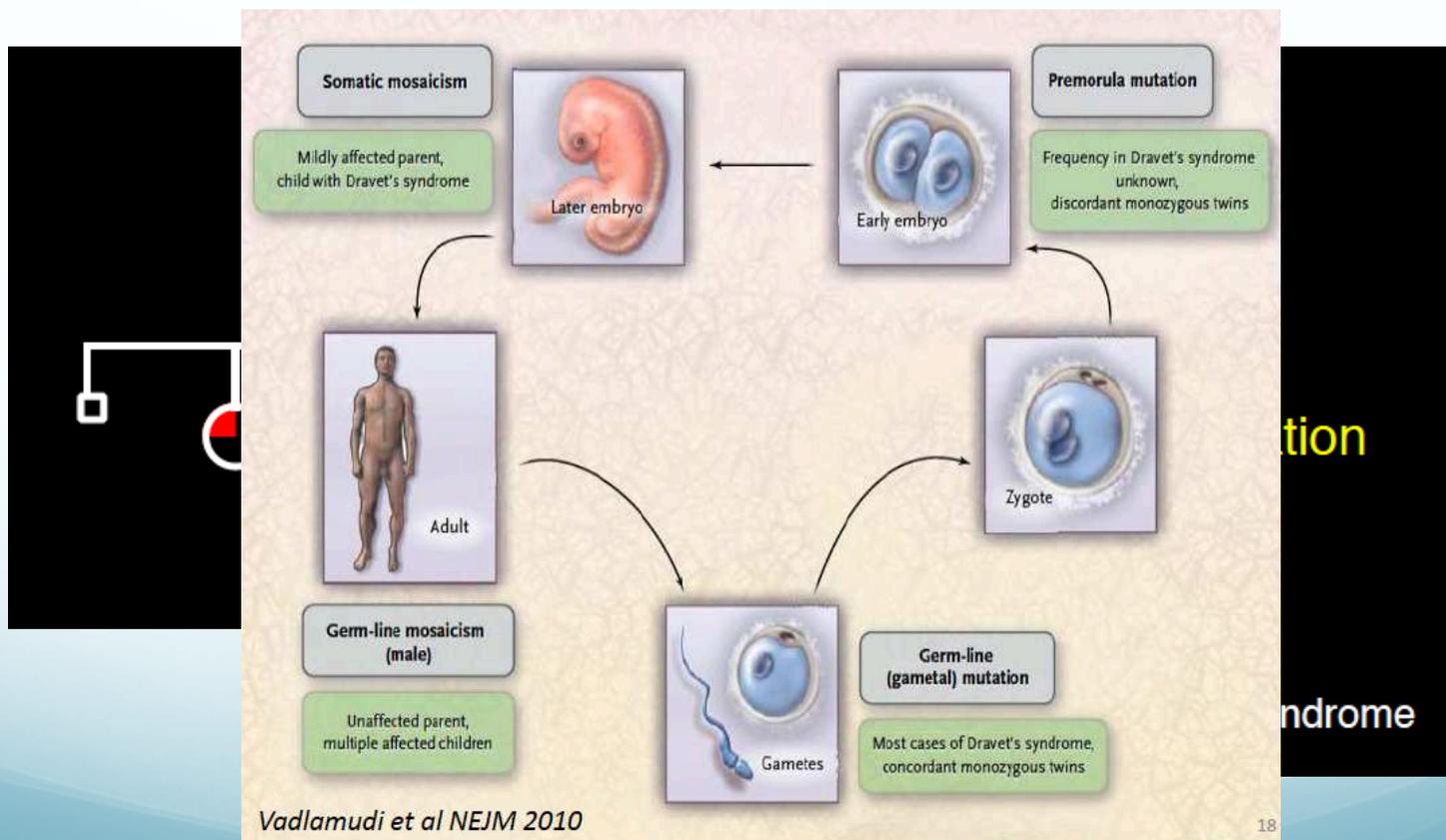
Samuel F Berkovic, Louise Harkin, Jacinta M McMahon, James T Pelekanos, Sameer M Zuberi, Elaine C Wirrell, Deepak S Gill, Xenia Iona, John C Mulley, Ingrid E Scheffer

- 14 encefalopatie infantili esordite in corrispondenza di vaccino, entro 72 ore (12 s. di Dravet e 2 s. di Lennox-Gastaut)
- 11 su 14 s. di Dravet presentavano mutazioni SCN1A
- La “encefalopatia vaccinica” ha fenotipo Dravet-simile

- Etiologia genetica, non “vaccinica” !

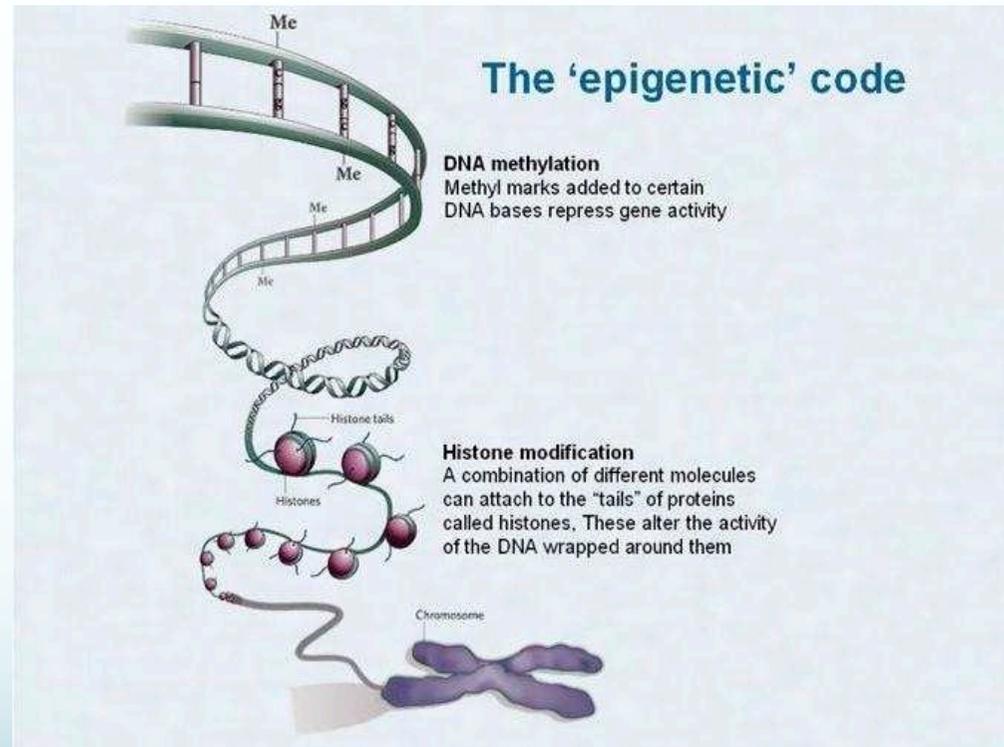
Non è tutto scritto nel gene

SINDROME DI DRAVET E GEMELLI DISCORDANTI



Epigenetica

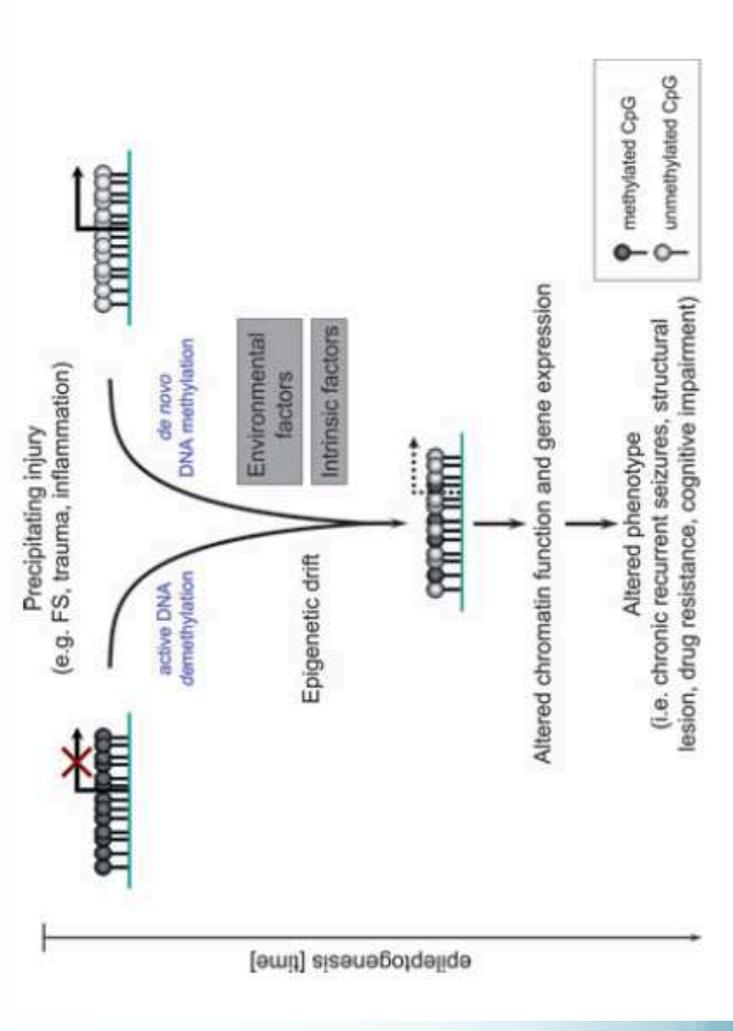
Ereditarietà non dipendente dalla sequenza genica



The emerging role of DNA methylation in epileptogenesis

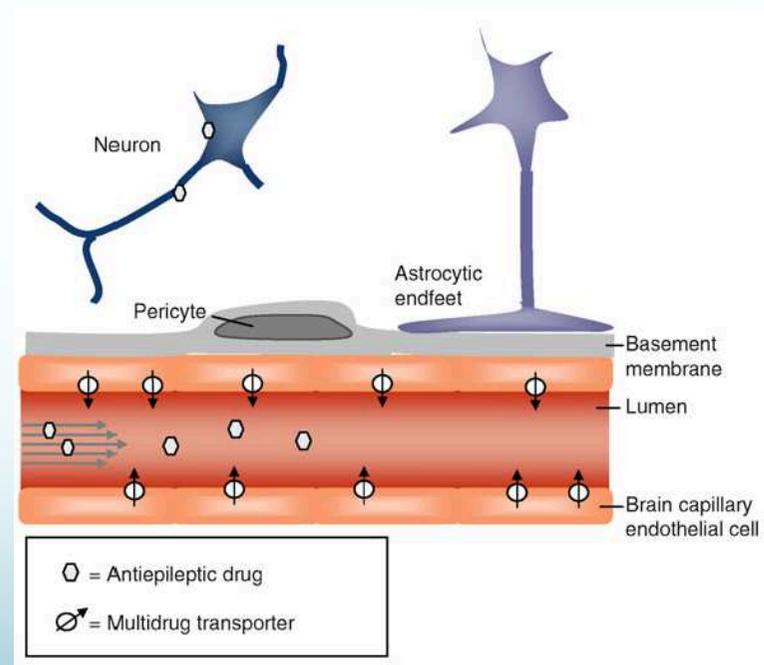
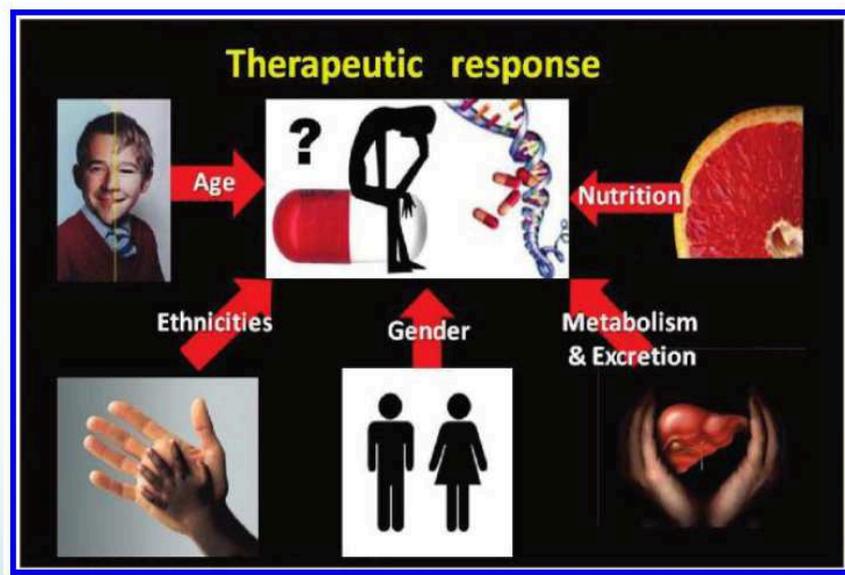
Katja Kobow and Ingmar Blümcke

Department of Neuropathology, University Hospital Erlangen, Erlangen, Germany



Genetica e farmacoresistenza

Circa il 30% delle epilessia non risponde adeguatamente a farmaci



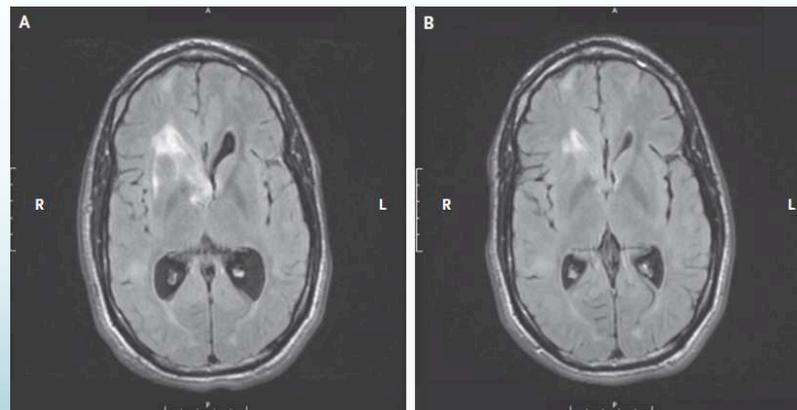
FARMACOGENOMICA

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Everolimus for Subependymal Giant-Cell Astrocytomas in Tuberous Sclerosis

Darcy A. Krueger, M.D., Ph.D., Marguerite M. Care, M.D.,
Katherine Holland, M.D., Ph.D., Karen Agricola, F.N.P., Cynthia Tudor, P.N.P.,
Prajakta Mangeshkar, M.S., Kimberly A. Wilson, M.S., Anna Byars, Ph.D.,
Tarek Sahnoud, M.D., Ph.D., and David Neal Franz, M.D.



Terapia genica in epilessia?

Antiepileptogenic						
Gene	Vector	Model	Site of injection	Timing	Results	Reference
FGF2 and BDNF	HSV-1	Pilocarpine	Hippocampus	Latency (4 days after SE)	DM: reduced cell loss, increased neurogenesis	Paradiso et al., 2009
					AE: reduced seizure frequency and severity	
					DM: reduced neuroinflammation	Bovolenta et al., 2010
					DM: reduced mossy fiber sprouting	Paradiso et al., 2011
Antiseizure						
Gene	Vector	Model	Site of injection	Timing	Results	Reference
GABA _A subunit alpha-1	AAV2	Pilocarpine	Dentate gyrus of the hippocampus	Before pilocarpine	AS: decreased % of animals with SRS at 4 weeks	Raol et al., 2006
NMDA subunit NR1 (anti-sense)		Inferior colliculus stimulation	Inferior colliculus	Before stimulation	AS or PC (depending on the promoter and the transduced cells)	Haberman et al., 2002
GAL	AAV2	Intrahippocampal kainate	Hilus of dentate gyrus in the hippocampus	Before kainate	AS: attenuation of seizures DM: reduced hilar cell loss	Haberman et al., 2003
		Inferior colliculus stimulation	Inferior colliculus	Before inferior colliculus stimulation	AS: increased seizure threshold	
		Intrahippocampal kainate	Hippocampus	Before kainate	AS: reduction of seizure frequency and severity	Lin et al., 2003
		Intraperitoneal kainate Piriform cortex kindling	Piriform cortex Piriform cortex	Before kainate Fully kindled	AS: reduction of seizing animals AS: increased seizure threshold	McCown 2006
NPY	AAV2 AAV1/2	Intrahippocampal kainate	Hippocampus	Before kainate	AS: delayed latency and reduction of seizure frequency	Richichi et al., 2004
		Rapid hippocampal kindling	Hippocampus	Before kindling	AS: retardation of kindling development	
	AAV2	Intraperitoneal kainate	Piriform cortex	Before kainate	AS: delayed latency	Foti et al., 2007
	AAV1/2	Self-sustained SE	Hippocampus (bilateral)	In the chronic period (with spontaneous seizures)	AC: reduction of seizure frequency in a subset of rats DM: arrest in disease progression	Noè et al., 2008
	AAV1/2	Rapid kindling	Hippocampus	Before kindling	AS: retardation of kindling development AR: no alteration in LTP	Sørensen et al., 2009
	AAV1	Intrahippocampal kainate	Hippocampus	Before kainate	AC: reduction of seizure frequency and duration AR: no alteration in learning and memory, anxiety, locomotor activity	Noè et al., 2010
Y2 receptor	AAV1/2	Rapid hippocampal kindling; subcutaneous kainate	Hippocampus	Before kindling or kainate	AS: retardation of kindling development and reduction of kainate seizure frequency	Woldbye et al., 2010
		Rapid hippocampal kindling	Hippocampus	Before kindling	AS: potentiation	
NPY + Y2 receptor						
GDNF	AAV2	Hippocampal kindling		Before kindled	AS: no seizure generalization	Kanter-Schlifke et al., 2007
		Hilus of dentate gyrus hippocampal kindling		Fully kindled	AS: increased currents to evoke seizures	
		self-sustained SE		Before SE	AC: reduction of seizure severity and mortality	
ADK (antisense)	AAV8	ADK transgenic mice	Intra-CA3	Spontaneously seizing mice	AC: reduction of spontaneous seizures	Theofilas et al., 2011
ICPI/OPK (anti-apoptotic gene)	HSV-2	Intraperitoneal kainate	Intranasal	Before kainate	AC: prevention of seizures DM: prevention of neuronal loss and inflammation	Laing et al., 2006

CONCLUSIONI

- ✓ Il contributo dei fattori genetici in epilessia è rilevante, ma spesso complesso
- ✓ Le epilessie monogeniche non sono comuni
- ✓ L'aggregazione familiare è modesta
- ✓ La mutagenesi *de novo* assume un ruolo sempre più importante
- ✓ I fattori ambientali possono interagire con le modificazioni genetiche
- ✓ Conoscere le basi genetiche delle epilessie potrebbe permettere la comprensione dei meccanismi di farmacoresistenza e lo sviluppo di terapie specifiche

GRAZIE