

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DOTTORATO DI RICERCA IN

Medicina del Sonno

Ciclo XXV

Settore Concorsuale di afferenza: 06/D6

Settore Scientifico disciplinare: MED/26

STUDIO NEURORADIOLOGICO  
(MORFOLOGICO E FUNZIONALE)  
NEI PAZIENTI CON  
EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA

Presentata da: Dott.ssa Ilaria Naldi

Coordinatore Dottorato  
Prof. Pietro Cortelli

Relatore  
Prof. Paolo Tinuper

Esame finale anno 2013

# INDICE

<b>INTRODUZIONE .....</b>	<b>2</b>
<b>EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA (EFN): LA STORIA.....</b>	<b>2</b>
<b>EFN: DEFINIZIONE E CARATTERISTICHE CLINICHE .....</b>	<b>4</b>
<b>ASPETTI GENETICI DELL'EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA .....</b>	<b>9</b>
Epilessia frontale notturna autosomica dominante .....	9
Il recettore nicotinico dell'Acetilcolina .....	11
Epilessia Frontale Notturna Tipo 1.....	11
Epilessia Frontale Notturna Tipo 2.....	14
Epilessia Frontale Notturna Tipo 3.....	14
Nuove scoperte geniche in ADNFLE.....	16
ADNFLE e Epilessia Familiare Focale a Foci Variabili - Familial Focal Epilepsy with Variable Foci (FFEVF): una sovrapposizione clinica .....	16
<b>STATO DELL'ARTE .....</b>	<b>18</b>
<sup>1</sup> H-MRS.....	21
<b>METODICHE AVANZATE DI NEURO-IMAGING IN EPILESSIA .....</b>	<b>22</b>
<b>SCOPO DELLO STUDIO.....</b>	<b>25</b>
<b>MATERIALI E METODI .....</b>	<b>27</b>
<b>PROTOCOLLO RM .....</b>	<b>30</b>
<b>SCELTA DEI VOLUMI DI INTERESSE (VOI) DA STUDIARE .....</b>	<b>31</b>
<b>ETICA.....</b>	<b>32</b>
<b>RISULTATI.....</b>	<b>33</b>
<b>DATI CLINICI.....</b>	<b>33</b>
<b>RISULTATI RMN .....</b>	<b>35</b>
<b>ANALISI STATISTICA (<sup>1</sup>H-MRS) .....</b>	<b>35</b>
<b>RISULTATI <sup>1</sup>H-MRS.....</b>	<b>36</b>
<b>DISCUSSIONE E CONCLUSIONI .....</b>	<b>37</b>
<b>FIGURE E TABELLE.....</b>	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>51</b>

# INTRODUZIONE

## **EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA (EFN): LA STORIA**

Nel 1981 Lugaresi e Cirignotta descrissero cinque pazienti che presentavano episodi durante il sonno caratterizzati da movimenti scomposti degli arti e posture distonico-discinetiche. Le registrazioni poligrafiche, eseguite sotto controllo audio e video, avevano documentato che gli episodi erano stereotipati e insorgevano dallo stadio 2 del sonno NREM.

Gli autori proposero tre ipotesi per spiegare la natura dei fenomeni: un disturbo del movimento non ancora descritto (ma riconducibile, per analogia, ai casi di coreoatetosi parossistica chinesigenica riportati da Lance nel 1977); un tipo particolare di pavor notturno, oppure una peculiare sindrome epilettica con crisi ad origine dalle regioni profonde o mesiali dei lobi frontali (Lugaresi e Cirignotta, 1981). La breve durata, la stereotipia degli episodi e la risposta alla carbamazepina, erano fortemente a favore di una natura epilettica dei fenomeni. Tuttavia, l'assenza di anomalie elettroencefalografiche, critiche ed intercritiche, la mancata risposta al trattamento con fenitoina e il pattern motorio di tipo extrapiramidale erano elementi a favore della prima ipotesi. Da qui l'adozione del termine "distonia parossistica ipnogenica" per indicare questa particolare forma di distonia ad origine dal sonno. Alcuni anni dopo, gli stessi ricercatori definirono meglio tale condizione denominandola "distonia parossistica notturna" (*Nocturnal Paroxysmal Distonia*, NPD) e classificandola, sulla base della durata e dell'intensità degli episodi, in: 1) attacchi di breve durata, simili a quelli sopra descritti e interpretati come crisi epilettiche; 2) attacchi di lunga durata non rispondenti a nessun trattamento e probabilmente manifestazioni di un disturbo extrapiramidale (Lugaresi et al., 1986).

Quasi negli stessi anni altri autori descrivevano la semeiologia delle crisi ad origine dalle regioni mesio/orbitali del lobo frontale, caratterizzate da comportamenti motori bizzarri e complessi con attività bimanuale e bipedale, movimenti di pedalamento, violenti movimenti assiali e pelvici e,

a volte, automatismi deambulatori. L'EEG critico di superficie spesso era normale e gli episodi si verificavano più frequentemente in cluster durante la notte (Waterman et al., 1987; Wada 1988). Le analogie semeiologiche tra le crisi frontali e gli episodi di NPD di breve durata, insieme alla dimostrazione, in alcuni pazienti (attraverso l'utilizzo di elettrodi di profondità, sfenoidali o zigomatici), della presenza di chiare anomalie epilettiformi, diede definitiva conferma del fatto che gli episodi di NPD di breve durata fossero effettivamente crisi epilettiche ad origine dal lobo frontale (Tinuper et al., 1990).

Nel 1986 Peled e Lavie avevano descritto alcuni pazienti che presentavano brevi risvegli ricorrenti dal sonno NREM e riferivano sonnolenza diurna. Gli autori suggerivano una probabile origine epilettica di tali episodi perché rispondenti al trattamento con farmaci antiepilettici (Peled and Lavie, 1986).

“Arousals parossistici” (*Paroxysmal Arousals*, PA) fu il termine proposto per indicare questi bruschi fenomeni notturni che, dalle registrazioni video-EEG, dimostravano un pattern motorio stereotipato. I PA sono quindi brevi crisi epilettiche che spesso possono co-esistere insieme agli attacchi di NPD, rappresentando l'inizio di un attacco più prolungato (Montagna et al., 1990; Montagna, 1992).

Nel 1977 Pedley e Guillemainault per primi riportarono alcuni casi di sonnambulismo notturno che per il bizzarro pattern motorio (che ricordava le crisi dell'area frontale orbitaria descritte nel 1972 da Tharp), e la risposta a farmaci antiepilettici sembravano di natura epilettica, nonostante l'aspecificità delle registrazioni EEG.

Questa ipotesi fu confermata definitivamente solo negli anni successivi attraverso la documentazione video-EEG, e tale condizione fu denominata “sonnambulismo epilettico” (*Episodic Nocturnal Wanderings*, ENW) (Plazzi et al., 1995).

A questo punto si riuscivano a tracciare i confini dell'“epilessia frontale notturna”, una sindrome caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche di diversa intensità e durata:

PA, NPD e ENW possono infatti coesistere nello stesso soggetto rappresentando quindi “frammenti”, più o meno lunghi, della stessa crisi.

## **EFN: DEFINIZIONE E CARATTERISTICHE CLINICHE**

L'epilessia con crisi frontali notturne (Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy, NFLE) è un'entità sindromica caratterizzata da episodi critici che insorgono tipicamente in cluster durante il sonno NREM. Nella maggior parte dei pazienti tali crisi si presentano nelle prime ore del sonno (1-2 ore dopo l'addormentamento) o nelle prime ore del mattino. Le crisi possono avere una sintomatologia motoria molto limitata ma, nella maggioranza dei casi, durante gli episodi i pazienti mettono in atto un comportamento complesso, spesso bizzarro e violento. Le caratteristiche cliniche della NFLE sono state definite dalla scuola Bolognese (Tinuper et al., 1990; Provini et al., 1999, Provini et al., 2000; Tinuper e Lugaresi 2002; Tinuper et al., 2002; Tinuper et al., 2005 Tinuper et al.,2007).

In questi episodi si osserva una importante attivazione motoria, con le caratteristiche di un disturbo extrapiramidale di tipo discinetico-distonico o di un comportamento bizzarro e agitato con automatismi bipedali e bimanuali, basculamento del bacino, torsione del busto e talvolta automatismi deambulatori (Oldani et al., 1998). Circa metà dei pazienti riferisce un'aura descritta come un formicolio generalizzato (non ben localizzato) o un brivido, una sensazione di paura, mancanza di respiro (fame d'aria) o allucinazioni uditive (Scheffer et al., 1995). Vocalizzazioni bizzarre, urli, mugugni sono abbastanza comuni all'inizio della crisi. Le crisi sono di solito brevi, durano meno di un minuto e raramente evolvono in una secondaria generalizzazione. Crisi diurne sono presenti in una minoranza di pazienti e di solito limitate ad un breve periodo della vita.

Si distinguono quattro differenti pattern semeiologici critici: arousal parossistici (PA); crisi ipercinetiche (HS); crisi toniche bilaterali asimmetriche (Asymmetric Bilateral Tonic Seizures) (ATS) e sonnambulismo epilettico (Epileptic Nocturnal Wandering) (ENW) (Plazzi et al.,1995).

Ognuno di questi differenti pattern critici può anche coesistere nello stesso paziente (Montagna 1992; Provini et al., 1999).

*AROUSAL EPILETTICI* (Paroxysmal Arousals, PA): sono gli episodi più brevi (meno di 20 sec) e consistono in un brusco risveglio dal sonno NREM. Fortemente stereotipati nello stesso paziente, possono comparire più volte per notte (Montagna et al., 1990). Il paziente apre gli occhi e solleva la testa oppure improvvisamente si siede sul letto con una espressione spaventata, a volte accompagnata da un grido. Si possono associare posture distoniche o movimenti delle dita (Tinuper et al., 1997). Al termine dell'episodio il paziente torna a dormire. L'analisi delle registrazioni video-poligrafiche ha dimostrato che nel 25% dei pazienti i PA insorgono periodicamente ogni 20-30 secondi, e sono preceduti da un K-complesso visibile all'EEG (Tinuper et al., 1990). Tale periodicità sembra riflettere la pulsatilità del meccanismo degli arousals (Lugaresi et al., 1972), suggerendo che i meccanismi coinvolti nell'organizzazione della microstruttura del sonno modulino anche la periodicità delle crisi epilettiche (Provini et al., 1999).

*CRISI IPERMOTORIE* (Nocturnal Paroxysmal Distonia, NPD): anche questi episodi iniziano con un risveglio dal sonno NREM, ma si differenziano dai PA per una durata maggiore (20 secondi-2 minuti) e un'attività motoria più complessa, caratterizzata da movimenti ballici ampi, a volte violenti, con atteggiamento distonico di testa, tronco e arti (come rotazione della testa e torsione del tronco), movimenti coreo-ateoidi di braccia e gambe. Gli automatismi bimanuali e bipedali (movimenti di pedalamento, basculamento del bacino, movimenti ripetitivi di tronco ed arti) possono mimare un comportamento sessuale o di difesa.

Il pattern motorio quindi può assumere le caratteristiche di un disturbo extrapiramidale di tipo discinetico-distonico, ma include soprattutto manifestazioni tipiche del lobo frontale, con possibile coinvolgimento sia dell'Area Supplementare Motoria (ASM), sia dell'area orbito-mesiale. Le crisi sono identiche nello stesso paziente e possono conservare la loro stereotopia nel corso degli anni.

Si possono osservare espressioni spaventate, talora associate a urla, vocalizzazioni, mugugni, ingiurie (Tinuper et al., 2002).

Il contatto con l'ambiente è il più delle volte conservato e le crisi raramente evolvono in una secondaria generalizzazione. L'episodio di solito non è seguito da confusione postcritica e il paziente tende a riaddormentarsi dopo pochi minuti.

Solo una minoranza di pazienti riferisce sensazioni premonitrici eterogenee e non-specifiche, più comunemente descritte come un formicolio o un brivido generalizzato, allucinazioni uditive o sensazioni somatosensoriali coinvolgenti la testa o gli arti (Scheffer et al.,1995).

*CRISI TONICHE BILATERALI ASIMMETRICHE* (Asymmetric Bilateral Tonic Seizures, ATS): queste crisi sono caratterizzate dall'assunzione improvvisa di una posizione tonico/distonica a carico dei quattro arti. Gli arti sono tenuti in questa posizione forzata bilateralmente per alcuni secondi. La contrazione tonica può coinvolgere anche i muscoli facciali e i muscoli orali. E' possibile inoltre il verificarsi di vocalizzazioni. Normalmente i pazienti mantengono il contatto ma non sono in grado di parlare (Tinuper et al., 2005).

*SONNAMBULISMO EPILETTICO* (Episodic Nocturnal Wanderings, ENW): si tratta di episodi parossistici prolungati (1-3 minuti), il cui inizio è identico a quello dei PA e NPD ed è seguito da una deambulazione "agitata", bizzarra, con grida e movimenti distonici. In alcuni casi il comportamento è associato a una chiara scarica epilettica visibile all'EEG (Plazzi et al., 1995).

La EFN prevale nel sesso maschile. L'età di esordio delle crisi è compresa tra 1 e 64 anni (età media: 14±10 anni), tuttavia nonostante l'ampio range di età sembra essere una patologia ad esordio durante l'infanzia e l'adolescenza.

Una eziologia nota delle crisi (sofferenza perinatale, convulsioni febbrili o traumi cranici) è riscontrata solo nel 13% dei pazienti; la scarsa prevalenza di fattori lesionali suggerisce la presenza di un difetto funzionale sottostante nella maggior parte dei casi (Provini et al., 1999).

Nel 78% dei casi non vengono descritti fattori precipitanti, mentre nella restante percentuale l'insorgenza di crisi notturne sarebbe favorita da stress psicologico, privazione di sonno e periodo perimenzstruale.

La EFN è caratterizzata da una elevata frequenza delle crisi ( $20\pm 11$  episodi al mese, con un numero variabile di crisi a notte compreso tra 1 e 20). Una percentuale variabile dal 27 al 34% dei pazienti presenta episodi diurni simili a quelli che si verificano durante la notte (Provini et al., 1999; Steinlein 2000), di solito limitati a periodi specifici della vita.

Alcuni pazienti (58%) possono riferire disturbi diurni (difficoltà di risvegliarsi, stanchezza e/o eccessiva sonnolenza diurna) secondari alla frammentazione del sonno indotta dalle crisi (Oldani, et al., 1998).

Nel 25% dei casi si è riscontrata una familiarità positiva per epilessia: nell'8% dei pazienti è stata diagnosticata una NFLE con trasmissione di tipo autosomico dominante (Provini et al. 1999).

La maggior parte dei pazienti presenta più di un tipo di crisi, spesso anche durante la stessa notte (combinazione di PA e NPD nel 32% dei casi; di PA e ENW nel 31%; di NPD e ENW nel 2%; di tutte e tre le manifestazioni nel 7% dei casi) mentre solo una piccola percentuale manifesta crisi di un solo tipo (NPD nel 19% dei casi; PA nel 9%; nessun paziente però presenta episodi di ENW isolati) (Provini et al., *ibid.*). Nei pazienti con più di un tipo di crisi, l'inizio è comunque stereotipato.

Nella maggior parte dei casi l'esame obiettivo neurologico è negativo; in alcuni pazienti vengono segnalati una asimmetria facciale o dell'emisoma, o dei riflessi osteo-tendinei. Anche gli esami neuroradiologici sono quasi sempre nella norma, evidenziando alterazioni (malformazioni vascolari frontali, lesioni ischemiche, cisti aracnoidee fronto-basali, aree di displasia cortico-frontale, atrofia temporale e gliosi frontale) solo nel 14% dei casi (Provini et al., *ibid.*).

L'EEG critico di superficie solo raramente evidenzia anomalie, tra cui punte, onde puntute e onde lente sulle regioni anteriori, bilateralmente oppure, meno frequenti, ritmi rapidi focali a basso voltaggio nelle regioni frontali (Sheffer, 2000). A volte si evidenzia un fluttering dell'attività di fondo, focale o diffuso (Oldani et al., 1996; Provini et al., 1999).

La difficoltà di registrare anomalie è dovuta a diversi fattori: innanzitutto la semeiologia delle crisi, frequentemente di tipo ipercinetico, per cui artefatti muscolari mascherano precocemente il tracciato



EEG; l'inaccessibilità delle aree mesiali dei lobi frontali agli elettrodi di superficie; infine la rapida diffusione della scarica al di fuori delle regioni frontali (Hayman et al., 1997).

Anche l'EEG intercritico sia in veglia sia durante il sonno è spesso irrilevante; in alcuni casi si può evidenziare un'attività epilettiforme localizzata sulle regioni anteriori (Sheffer, 2000), oppure attività lente (theta) focali (Provini et al., 1999).

Nel 97% dei casi le crisi insorgono dal sonno NREM, soprattutto dallo stadio 2, sebbene si possano manifestare anche durante gli stadi 3 e 4. In una minoranza di pazienti (3%) sono state descritte anche crisi a insorgenza dal sonno REM (Provini et al., *ibid.*).

Degli esami neurofunzionali, la PET intercritica ha evidenziato, in una percentuale variabile dal 45 al 64% dei casi, un ipometabolismo frontale focale che deriverebbe da una ipoperfusione ematica della regione mesiale del lobo frontale, come peraltro documentato dalla SPECT intercritica (Hayman et al., 1997).

Gli studi di SPECT critica hanno mostrato invece, un transitorio aumento del flusso sanguigno nelle regioni frontali mesiali, confermando così il coinvolgimento delle aree frontali durante le crisi di EFN (Hayman et al., 1997).

Studi più recenti, in particolare, hanno rivelato come negli episodi di PA, all'iperperfusionione della regione anteriore destra del cingolo, del tronco encefalico e cervelletto, si accompagna un'ipoperfusione della corteccia frontale e temporale destra. La diminuzione di flusso in queste aree è probabilmente da associare alla compromissione dello stato di coscienza durante la crisi e all'alterata capacità mnesica al risveglio (Bassetti et al., 2000; Vetrugno et al., 2005).

Poiché gli esami neuroradiologici e l'EEG nella maggior parte dei casi sono privi di anomalie, la diagnosi di epilessia frontale notturna è fatta in base alle caratteristiche cliniche e alla registrazione videopoligrafica di almeno un episodio maggiore (ipermotorio e/o discinetico-distonico), oppure almeno due episodi minori (paroxysmal arousal), insorgenti dal sonno NREM.

Da un punto di vista terapeutico, la carbamazepina è il farmaco di prima scelta per l'EFN; la risposta a basse dosi di questo farmaco viene addirittura considerata un elemento diagnostico ex

adiuvantibus. Nella maggior parte dei pazienti si ottiene un completo controllo delle crisi oppure una significativa riduzione degli episodi. In un terzo dei casi i pazienti sono resistenti al trattamento.

## **ASPETTI GENETICI DELL'EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA**

Negli ultimi venti anni, hanno suscitato particolare interesse le forme di EFN a trasmissione familiare. Nel 1994, infatti, Scheffer et al hanno descritto cinque famiglie in cui la malattia era trasmessa con modalità autosomica dominante: l'ADNFLE (Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy), che successivamente è stata riconosciuta in famiglie provenienti da tutto il mondo (Australia, Canada, Europa, Giappone). Finora sono state isolate dieci mutazioni dei geni codificanti per le subunità dei recettori per l'acetilcolina (ACh), a conferma della eterogeneità genetica della sindrome. (Hirose et al., 1999; Steinlein, et al., 1997; Leniger et al., 2003; De Fusco et al., 2000; Phillips et al., 2001; Hoda et al., 2008; Bertrand et al., 2005; Aridon P, et al., 2006; Steinlein et al., 2012).

Al momento l'ADNFLE è considerata una patologia dei canali ionici con probabili conseguenze sui circuiti talamo-corticali che regolano i meccanismi del sonno. Restano comunque ancora da spiegare completamente i meccanismi patogenetici implicati in questa forma di epilessia, tra cui, ad esempio, il motivo per cui il difetto congenito di un sistema così diffuso come quello colinergico porti ad un disturbo specifico confinato alla regione frontale.

### **Epilessia frontale notturna autosomica dominante**

L'ADNFLE (Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy-EPILESSIA FRONTALE NOTTURNA AUTOSOMICA DOMINANTE) è la prima epilessia parziale idiopatica a trasmissione monogenica (mendeliana) (Scheffer et al.,1994).

Dal punto di vista clinico i casi familiari rappresentano una percentuale nettamente inferiore (25%) rispetto a quelli sporadici (Provini et al., 1999). L'ereditarietà è di tipo autosomico dominante con penetranza del 75%. All'interno della stessa famiglia può esserci una variabilità

nell'esordio e nella severità del quadro clinico (Hayman et al., 1997). Gli studi di genetica molecolare finora condotti hanno identificato tre forme geneticamente distinte di ADNFLE :

EFN1 (epilessia frontale notturna, tipo 1)

EFN2 (epilessia frontale notturna, tipo 2)

EFN3 (epilessia frontale notturna, tipo 3)

Tuttavia solo per due di questi loci (EFN1 e EFN3) sono stati identificati i geni sottostanti, e finora sono state descritte 10 mutazioni diverse dei geni responsabili della malattia. Questi dati sottolineano uno degli aspetti più importanti dell'ADNFLE: l'ampia *eterogeneità genetica* di questa particolare forma di epilessia, sia a livello dei loci, che a livello allelico. L'apparente semplicità delle basi genetiche dell'ADNFLE è stata inoltre smentita dall'evidenza che le mutazioni finora descritte sono state trovate solo in un numero limitato di pedigree (meno del 10%), mentre la maggior parte delle famiglie con ADNFLE non mostra alcun linkage né sul cromosoma 20 né sul cromosoma 15 (Combi et al., 2004).

E' stata inoltre descritta una certa *variabilità nell'espressione dei sintomi* tra i membri di una stessa famiglia con lo stesso difetto genico che, giustificata dall'incompleta penetranza di un difetto genetico trasmesso con modalità autosomica dominante, suggerisce la presenza di multiple influenze responsabili del fenotipo in ciascun individuo.

Questa osservazione, insieme alla difficoltà di stabilire una correlazione genotipo-fenotipo e alla ridotta penetranza della malattia, suggerisce che l'ADNFLE sia in realtà un disordine oligogenico, cioè modulato da un piccolo numero di loci (Combi et al., 2004), come già suggerito da Leniger et al. (2003).

Tutte le mutazioni dell'ADNFLE sono state descritte all'interno di geni che codificano per subunità diverse del recettore nicotinico per l'acetilcolina (nAChR), appartenente alla superfamiglia dei canali ionici regolati da ligandi. Questo sottolinea l'importanza del ruolo del nAChR nella fisiopatologia della malattia (visto che mutazioni diverse dello stesso recettore sono alla base di un'unica forma di epilessia), e permette di considerare questa particolare epilessia una canalopatia.

## **Il recettore nicotinico dell'Acetilcolina**

I recettori nicotinici per l'acetilcolina (nAChR) possono essere distinti in due gruppi: recettori muscolari (che, a livello della giunzione neuromuscolare, mediano la trasmissione neuromuscolare) e recettori neuronali, presenti sia nel sistema nervoso centrale che periferico, dove operano un controllo della trasmissione sinaptica (Hogg et al., 2003).

Il recettore nicotinico per l'ACh è un etero-pentamero dato dalla combinazione di singole subunità,  $\alpha$  e  $\beta$ , circondanti un canale centrale. Finora sono state descritte dodici subunità distinte ( $\alpha 2$ - $\alpha 10$ ;  $\beta 2$ - $\beta 4$ ) diversamente espresse all'interno del sistema nervoso. Nonostante la possibilità di una grande variabilità della configurazione stechiometrica del recettore, la forma più comune è la  $\alpha 4$ - $\beta 2$  e l' $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  è considerato il sottotipo di nAChR dominante a livello del SNC, dove sembrerebbe avere una localizzazione principalmente presinaptica.

Ciascuna subunità è costituita da un'ampia porzione N-terminale extracellulare contenente il sito di legame per l'ACh, quattro segmenti di dominio transmembrana (TM1-TM4) e un loop intracellulare tra M3 e M4 con sequenze di consenso per i siti di fosforilazione.

Tutti i segmenti M2 di ciascuna subunità formano la parete del poro centrale e quindi hanno un ruolo rilevante sia per la selettività ionica del recettore, sia per il livello energetico della transizione allosterica.

Il legame dell'acetilcolina a due delle cinque subunità recettoriali provoca una modificazione della conformazione dell'intera proteina: l'apertura del canale e l'ingresso di ioni  $\text{Na}^+$  all'interno della cellula, media così una veloce trasmissione del segnale alle sinapsi.

## **Epilessia Frontale Notturna Tipo 1**

L'epilessia frontale notturna di tipo 1 è associata alla mutazione del gene CHRNA4 mappato sul cromosoma 20q13.2 (Phillips et al., 1995). Tale gene, espresso in ogni strato della corteccia frontale, codifica per la subunità  $\alpha 4$  del recettore nicotinico per l'acetilcolina. Attualmente si

conoscono cinque mutazioni differenti di CHRNA4, di cui quattro sono mutazioni missenso e una è un' inserzione:

S248F	(Steinlein et al., 1995)
776ins 3bp(GCT)	(Steinlein et al., 1997)
S252L	(Hirose et al.,1999)
de novo S252L	(Phillips et al., 2000)
T265I	(Leniger et al,2003)
S284L	(Rozycka et al,2003)

La S248F è una mutazione missenso, scoperta da Steinlein in una famiglia australiana e poi successivamente descritta in un'altra famiglia (Steinlein et al., 1995, 2000); la transizione C-T determina la sostituzione della serina (un amminoacido neutro) con la fenilalanina (che invece è aromatico) all'interno del codone 248, un residuo amminoacidico critico e fortemente conservato nel secondo dominio transmembrana (TM2).

Gli effetti della mutazione sulle proprietà fisiologiche del recettore sono stati studiati in vitro, iniettando in oociti di *Xenopus*, subunità mutanti con subunità di ceppo selvaggio. Tali studi hanno evidenziato come la mutazione comporterebbe una diminuzione della funzione recettoriale, anche se il problema è tuttora controverso (Weiland et al., 1996; Kuryatov et al., 1997, Bertrand et al., 1998; Sheffer, 2000).

La mutazione 776insGCT, descritta sempre da Steinlein et al. (1997) in una famiglia norvegese, consiste in una inserzione di tre bp (GCT) nella posizione nucleotidica 776, che codifica per la porzione C terminale del dominio M2. Le conseguenze di questa mutazione consistono da un lato in un aumento dell'affinità recettoriale per l'Ach, dall'altro in una permeabilità al  $Ca^{2+}$  significativamente più bassa (dovuta all'accelerata desensibilizzazione) da parte del recettore mutato. Tutto ciò, a livello cellulare, si traduce in una perdita di funzione.

Quindi, nonostante le due mutazioni (S248F e 776Ins3) abbiano diversi effetti in vitro sulla funzione recettoriale, tuttavia entrambe alla fine sembrano causare un'ipoattività del recettore (Sheffer, 2000).

La sostanziale omogeneità delle manifestazioni cliniche nelle famiglie con queste due mutazioni di ADNFLE, dimostra come due difetti genici differenti possano dare un fenotipo di malattia simile (Steinlein et al., 1997), ribadendo il concetto di eterogeneità genetica.

La mutazione S252L consiste sempre in una transizione C-T, con conseguente sostituzione della serina con la leucina nel dominio M2. Descritta per la prima volta in una famiglia giapponese (Hirose et al., 1999), recentemente la stessa sostituzione amminoacidica è stata dimostrata come mutazione ex-novo in un caso sporadico (Phillips et al., 2000). Nel 1999 Saenz ha identificato una mutazione analoga (S252M) all'interno dello stesso codone. E' probabile che queste mutazioni conferiscano al recettore le stesse caratteristiche elettrofisiologiche della mutazione S248F e, alterando il meccanismo d'ingresso nel canale, determinino una perdita di funzione del recettore.

La mutazione T265I è stata descritta da Leniger in una famiglia tedesca ed è rappresentata da una transizione nucleotidica C-T, con conseguente sostituzione della treonina con l'isoleucina alla posizione amminoacidica 265. Di tutte le mutazioni scoperte all'interno della subunità  $\alpha 4$ , questa sembra essere quella posta più a valle nella regione C-terminale del dominio M2. Studi elettrofisiologici hanno dimostrato un'aumentata sensibilità per l'ACh da parte del recettore mutato. In realtà l'aspetto più interessante di questa nuova mutazione sarebbe la sua bassa penetranza (29%) rispetto alle altre forme di ADNFLE. Per questo motivo si preferisce parlare di "effetto genico maggiore" piuttosto che di modalità di trasmissione autosomica dominante, e si ipotizza l'esistenza di un continuum tra le forme monogeniche e oligogeniche di EFN (Leniger et al., 2003).

La S284L, l'ultima mutazione del gene CHRNA4 descritta finora, è costituita da una transizione C-T all'interno dell'esone 5 che causa la sostituzione della serina con una leucina in posizione 284, sempre nel dominio M2.

La stessa mutazione era stata descritta in una singola famiglia giapponese con ADNFLE e in una donna australiana con una forma sporadica di NFLE (Rozyska et al., 2003).

### **Epilessia Frontale Notturna Tipo 2**

L'epilessia frontale notturna di tipo 2 è associata alla mutazione del cromosoma 15 nella regione 15q24, che si trova in prossimità del cluster di geni CHRNA3, CHRNA5 e CHRNB4, codificanti per altre subunità ( $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  e  $\beta 4$ ) del recettore nicotinic per l'Ach (Phillips et al., 1998). Il fallimento della ricerca delle mutazioni nel cromosoma 20q in tutte e sette le famiglie con ADNFLE studiate e la scoperta, in una di loro, di un linkage con la regione 15q24, è un'ulteriore conferma del fatto che le mutazioni di CHRNA4 sono difetti genici minori.

### **Epilessia Frontale Notturna Tipo 3**

L'epilessia frontale notturna di tipo 3 è associata alla mutazione del gene CHRNB2, che codifica per la subunità  $\beta 2$  del recettore nicotinic per l'Ach.

Per quest'ultima forma di EFN è stato dimostrato un linkage con il cromosoma 1 nella regione 1p21 (Gambarella et al., 2000).

Sono riportate due mutazioni del gene:

V287L (De Fusco et al., 2000)

V287M (Phillips et al., 2001)

La mutazione descritta da De Fusco et al. (ibid.), V287L consiste in una transversione G-C nell'esone 5 che causa la sostituzione dell'amminoacido Valina con una leucina in posizione 287, all'interno del dominio M2. Diversi studi hanno dimostrato che il segmento M2 e il loop M2-M3 della subunità  $\beta 2$  del recettore nicotinic prendono parte alla formazione del cancello ionico, controllando così l'attività del canale. Gli esperimenti elettrofisiologici condotti sui recettori mutanti ( $\alpha 4$ -V287L $\beta 2$ ) dimostrano come questi ultimi, lasciando il cancello ionico aperto per un

tempo più lungo, determinino una corrente ionica più prolungata verso l'interno della cellula a seguito dello stimolo colinergico. In sintesi l'effetto più importante della mutazione V287L, in vitro, sarebbe il ritardo della desensibilizzazione del canale con conseguente guadagno di funzione.

L'ipotesi finale è che nei pazienti con questa mutazione le crisi siano dovute o a un'attivazione prolungata dei recettori presinaptici per l'ACh, con aumento del rilascio di neurotrasmettitori, oppure a un'attivazione abnormale dei recettori postsinaptici per l'ACh che potrebbe causare ipereccitabilità, scatenando la scarica dei neuroni (De Fusco et al., *ibid.*)

La mutazione V287M, scoperta da Phillips (et al., *ibid.*) in una famiglia scozzese, consiste in una transizione G-A con conseguente sostituzione di una valina altamente conservata con una metionina, sempre in posizione 287. Il difetto genico è localizzato vicino al terminale extracellulare del dominio M2 che delimita il poro del canale ionico: essendo la valina rimpiazzata dalla più ingombrante metionina, il normale flusso ionico attraverso il canale risulta essere ostacolato.

L'effetto funzionale della mutazione sarebbe un aumento di circa 10 volte dell'affinità per l'ACh dei recettori mutanti rispetto a quelli normali, che si traduce in un guadagno di funzione (Phillips et al., *ibid.*). Come detto sopra, i dati relativi all'effetto delle mutazioni sulla funzionalità recettoriale riportati dai diversi autori sono contrastanti, e comunque non risulta chiaro come mutazioni che causano effetti opposti (perdita e guadagno di funzione) possano determinare lo stesso fenotipo.

Per spiegare il ruolo dei recettori mutati nella patogenesi di questa particolare epilessia, si dovrebbero conoscere i circuiti neuronali in cui tali recettori sono coinvolti, all'interno dei quali una perdita di funzione recettoriale (descritta in vitro) potrebbe tradursi in una iperattività del circuito.

Finora sono stati descritti diversi modelli ipotetici sul meccanismo patogenetico sottostante l'ADNFLE. I più importanti sono i tre modelli proposti Raggenbass e Bertrand (2002), basati sull'ipotesi comune che la presenza dei recettori mutati determini un'alterazione dell'equilibrio tra eccitazione ed inibizione a favore della prima, favorendo così l'insorgenza di crisi epilettiche.



## **Nuove scoperte geniche in ADNFLE**

Recentemente è stato identificato un nuovo gene, il primo non associato al recettore nicotinico dell'acetilcollina, responsabile di ADNFLE. Si tratta del gene KCNT1 che, a differenza dei geni noti, codifica per una subunità di un canale potassio sodio-dipendente,  $K_{Ca}4.1$  denominato anche SLACK ("sequence like a calcium-activated K channel").

Mutazioni in KCNT1 sono state riportate in tre famiglie (una italiana) ADNFLE e in un caso sporadico e sembrano associarsi ad un fenotipo più severo, caratterizzato da un esordio precoce di crisi frontali farmacoresistenti, ritardo mentale e disturbi psichiatrici. (Heron et al., 2012). Inoltre, in tutte e tre le famiglie descritte, la mutazione del gene KCNT1 segrega con un pattern autosomico dominante a penetranza completa, a differenza delle mutazioni dei geni che codificano per nAChR fino ad oggi noti (penetranza: 60-80%). Queste differenze cliniche hanno un'implicazione significativa in termini di consulenza genetica.

## **ADNFLE e Epilessia Familiare Focale a Foci Variabili - Familial Focal Epilepsy with Variable Foci (FFEVF): una sovrapposizione clinica**

L'FFEVF è una forma particolare di epilessia a ereditarietà autosomica dominante caratterizzata da crisi insorgenti da diverse aree corticali nei membri affetti dello stesso pedigree. I soggetti affetti possono presentare crisi insorgenti da aree frontali, temporali (mesiali o laterali), occipitali, parietali o multifocali che insorgono in genere intorno alla terza decade di vita (Klein et al., 2012).

Nonostante la variabilità intra-familiare, il fenotipo dei singoli membri affetti è stereotipato (Berkovic et al., 2004). Poiché uno dei pattern più comuni è rappresentato da crisi frontali notturne, la FFEVF è facilmente erroneamente diagnosticata come NFLE in pedigree nucleari dove la variabilità intra-familiare è difficilmente apprezzabile. FFEVF mappa sul cromosoma 22q12, il

gene attualmente non è noto ma, molto recentemente, sono stati ottenuti interessanti risultati relativi alla base genetico-molecolare della sindrome.

# STATO DELL'ARTE

L' Epilessia Frontale Notturna (EFN) è una sindrome che include uno spettro di fenomeni parossistici semeiologicamente distinti, ma che rappresentano un continuum della medesima condizione epilettica. Esistono quattro principali pattern critici: episodi di brevissima durata (Arousals Parossistici); crisi ipermotorie; crisi bilaterali toniche asimmetriche; crisi più prolungate con fenomeni deambulatori (sonnambulismo epilettico). La terapia farmacologica controlla le crisi in circa i 2/3 dei casi; nel restante 30% le crisi sono farmaco resistenti (Provini et al., 1999). In questi pazienti si può intraprendere un approfondito studio neurofisiologico e neuroradiologico, finalizzato alla localizzazione dell'area corticale responsabile delle crisi (zona epilettogena) per un eventuale trattamento neurochirurgico. Lo studio prechirurgico richiede, nella maggior parte di questi casi, l'utilizzo di elettrodi invasivi (Stereo-EEG) che permettono di registrare scariche EEG critiche ed intercritiche da strutture cerebrali (corteccia orbitaria e mesiale dei lobi frontali) altrimenti non accessibili ai convenzionali elettrodi EEG di superficie.

Vi sono diversi aspetti controversi che riguardano l'EFN e che necessitano di essere chiariti con ulteriori studi. In primo luogo non si conosce ancora la prevalenza della sindrome nella popolazione generale e nelle varie classi di età. Un secondo aspetto riguarda il meccanismo eziopatogenetico alla base della EFN, ancora sconosciuto. Nella casistica del gruppo di Bologna (la più vasta fino ad oggi pubblicata), una familiarità positiva per epilessia era presente in circa il 25 % dei casi (1/3 di loro con EFN), ma solo una piccola parte (circa il 3%) aveva un chiaro pattern di ereditarietà autosomico-dominante, pertanto è presumibile che l'EFN, come la maggior parte delle sindromi epilettiche, sia il risultato della interazione fra fattori genetici ed ambientali (modello poligenico multifattoriale). (Ottman, 2005)

Un elemento interessante, che potrebbe chiarire anche alcuni aspetti patogenetici della sindrome, è la frequente coesistenza, nei pazienti con EFN e nei loro familiari, di alcune parasonnie. Le parasonnie sono definite come “manifestazioni cliniche che, sebbene non costituiscano di per sé una

alterazione del normale processo che regola il ritmo sonno-veglia, rappresentano comunque un fenomeno fisico indesiderato che si manifesta prevalentemente durante il sonno” [ICSD-2 2005].

La prevalenza delle parasonnie nella popolazione generale varia dall’1 all’11%. Il meccanismo eziopatogenetico che ne è alla base non è noto. Con particolare riferimento alle parasonnie dell’arousal (pavor, sonnambulismo e risvegli confusi), è comunque ipotizzato un disturbo dei meccanismi che attivano il risveglio (arousal) che a sua volta provoca una dissociazione fra la componente motoria della veglia e l’attività elettroencefalografia del mantenimento della veglia, con la comparsa di un’attività motoria ed ideativa tipica della veglia durante una fase di sonno profondo (stato dissociato) (Mahowald e Schenck, 1991). E’ interessante notare che gli studi epidemiologici evidenziano una chiara ricorrenza familiare di molte parasonnie (sonnambulismo, pavor, sonniloquio, sogni terrifici, bruxismo, enuresi) e, per alcune di queste, la coesistenza nello stesso individuo di manifestazioni di tipo diverso (Hublin e Kaprio, 2003).

Nella nostra casistica un terzo dei pazienti con EFN hanno una storia personale e familiare positiva per alcune parasonnie ed in particolare per i disturbi dell’arousal (pavor e sonnambulismo) (Provini et al., 1999; Bisulli et al., 2010). Questo dato potrebbe riflettere una relazione tra i fenomeni inabituali del sonno, in particolare i disturbi dell’arousal, e le crisi frontali notturne. (Tinuper e Lugaresi, 2002)

Infine un altro punto di interesse riguarda la semeiologia delle crisi frontali notturne, spesso comuni ai disturbi dell’arousal. Mentre alcune caratteristiche cliniche sono tipiche del coinvolgimento delle strutture fronto-mesiali (crisi toniche asimmetriche), altre manifestazioni, come i comportamenti motori complessi, talora bizzarri, o apparentemente finalistici sono difficilmente spiegabili con la semplice attivazione di specifiche aree corticali, suggerendo una genesi più complessa del fenomeno. Inoltre gli aspetti distonico-discinetici delle crisi suggeriscono un coinvolgimento critico di strutture sotto-corticali. E’ pertanto possibile che la semeiologia delle crisi frontali notturne non sia semplicemente dovuta all’attivazione critica di specifiche strutture corticali, ma sia il risultato di una mancata inibizione di altre strutture corticali (temporali profonde) o sottocorticali. Una recente

teoria ipotizza che il pattern motorio che si osserva nelle EFN e nelle parasonnie dell'arousal è prodotto dalla "liberazione" dei Central Pattern Generators che permette la messa in atto di comportamenti innati (Tassinari et al., 2003, 2009). Perciò ogni evento, sia esso di origine parossistica o disfunzione dell'arousal, può causare un evento motorio con semeiologia compatibile con un comportamento motorio innato.

La forma autosomica dominante della epilessia frontale notturna (ADNFLE) si associa a mutazioni nei geni che codificano per le subunità alfa 4, alfa 2 e beta 2 del recettore nicotinic dell'acetilcolina (CHRNA4, CHRNA2 e CHRNB2); recettori con subunità mutate sembrano avere un'alterata sensibilità all'acetilcolina. I neuroni colinergici modulano il sonno e l'arousal a livello talamico e corticale, e un loro coinvolgimento nella EFN è quindi plausibile ma il meccanismo patofisiologico non è noto. Studi di linkage su famiglie che non presentano mutazioni nei geni noti hanno portato alla scoperta di altri loci associati a ADNFLE sul cromosoma 15q24 (in cui si trovano geni che codificano per altre subunità dei recettori nAChRs) e sui cromosomi 3p22-p24 e 8q11.2-q21.1, ma mutazioni su geni specifici non sono ancora state identificate.

Uno studio PET, utilizzando come tracciante un agonista ad alta affinità ([18F]-F-A-85380) per i recettori nicotinici, ha determinato la distribuzione regionale e la densità di questi recettori nel cervello dei pazienti con ADNFLE, evidenziando un'aumentata densità dei recettori nicotinici a livello dell'ipotalamo, del mesencefalo ventrale e del cervelletto, ma una ridotta densità a livello della regione prefrontale dorsolaterale destra. In cinque di questi pazienti, che erano stati sottoposti ad uno studio PET addizionale con [18F]-fluorodesossiglucosio (FDG), è stato osservato un ipometabolismo a livello delle aree limitrofe alla corteccia orbito-frontale destra. (Picard et al., 2006). Un altro recente studio PET effettuato sempre su pazienti con EFN associata alla mutazione alpha4-Ser248Phe nel gene per la subunità alfa4 (CHRNA4) del recettore per l'acetilcolina ha evidenziato una ridotta captazione di un marcatore specifico per i recettori D1 ([11C]-SCH23390) a livello dello striato (Fedi et al., 2008). Tale dato, che può avere differenti spiegazioni (elevato livello di dopamina extracellulare, down-regulation dei recettori dopaminergici, riduzione

dell'innervazione dopaminergica, riduzione dei neuroni striatali), sottolinea l'importanza del controllo striatale sulle proiezioni talamo-corticali che proiettano alla corteccia frontale.

## **<sup>1</sup>H-MRS**

La spettroscopia di risonanza magnetica (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS) consiste in una metodica non invasiva che, mediante immagini di risonanza magnetica, permette di misurare la concentrazione di specifici componenti biochimici in regioni predefinite sia a livello cerebrale che in altri organi. Con la spettroscopia di MR possiamo misurare spettri di molti isotopi di interesse biologico. Le applicazioni biomediche in vivo sono focalizzate prevalentemente su isotopi di protone (<sup>1</sup>H), fosforo (<sup>31</sup>P) e carbonio (<sup>13</sup>C) (Hajek et al., 2008). La più utilizzata nella pratica clinica è la <sup>1</sup>H-MRS. Al tempo lungo di eco, <sup>1</sup>H-MRS può rilevare composti contenenti N-acetyl-aspartato, colina, creatina-fosfocreatina e lattato. Al tempo corto di eco, sono visibili lipidi, trigliceridi, glutammato, glutamina, scylloinositolo, glucosio e mioinositolo (Bonavina et al., 1999). I metaboliti più importanti in ambito neurologico sono probabilmente l'N-acetyl-aspartato (NAA) che è un marker neuronale (Kantarci et al., 2008; Hammen and Kuzniecky 2012) e il mioinositolo (mI), marker gliale (Brand et al., 1999; Hammen and Kuzniecky 2012). <sup>1</sup>H-MRS può essere eseguita con tecniche a voxel singolo, a voxel multipli, a slice singola e a multislice. Questa tecnica può essere utile nello studio di numerosi disordini del sistema nervoso centrale, come le epilessie, i tumori cerebrali, le patologie cerebrovascolari, la sclerosi multipla e i disordini neurodegenerativi (grazie all'identificazione di alterazioni microscopiche non visibili mediante MR convenzionale) e le malattie metaboliche (alterazioni metaboliche associate a specifici pattern metabolici) (Lodi et al., 2009; Bonavita et al., 1999).

## **METODICHE AVANZATE DI NEURO-IMAGING IN EPILESSIA**

Attualmente in letteratura, studi effettuati mediante metodiche avanzate di neuro-imaging e in particolare studi di  $^1\text{H-MRS}$ , riguardano prevalentemente epilessie con crisi generalizzate (Bernasconi et al., 2003; Fojtiková et al., 2006; Haki et al., 2007; Doelken et al., 2010), con crisi del lobo temporale e dovute alla presenza di lesioni cerebrali. (Fojtiková et al., 2007; Shih et al., 2011)

Molta letteratura riguarda soggetti affetti da Epilessia Mioclonica Giovanile dove, dal punto di vista metabolico, sono state riscontrate ridotte concentrazioni di N-Acetil-Aspartato (NAA) a livello delle strutture frontali e prefrontali (Savic et al., 2000; Simister et al., 2003; Savic et al. 2004) e ridotte concentrazioni di Colina (Cho) nelle strutture talamiche (Haki et al., 2007).

Gli autori ipotizzano che la riduzione di NAA a livello delle strutture frontali e prefrontali possa essere dovuta ad una perdita neuronale, oppure ad una disfunzione neuronale associata ad alterazione del pool dei precursori dell'NAA, hanno ipotizzato anche che la causa potrebbe essere legata ad alterazioni del metabolismo energetico e a specifiche disfunzioni mitocondriali, infine che possa essere segno di una lesione neuronale associata al rilascio dell' NAA-aminoidrolasi, enzima che provoca una degradazione dell'NAA stesso. Tuttavia, nonostante la presenza di molti dati sulle modificazioni metaboliche cerebrali in questo tipo di epilessia, non è ancora chiaro il legame con il meccanismo fisiopatologico sottostante.

Lavori recenti, mirano a valutare il metabolismo neuronale e a quantificare i metaboliti a livello delle malformazioni corticali, come micropoligirie ed eterotopie, che generano crisi farmacoresistenti. Simister et al, hanno condotto uno studio quantitativo mediante  $^1\text{H-MRS}$  dove dimostrano che le anomalie corticali in pazienti con crisi farmaco resistenti, sono associate a un profilo neurochimico alterato di metaboliti come l'acido gamma-aminobutirrico (GABA) e l'NAA (Simister et al., 2007). Alterazioni metaboliche, in termini di ridotto rapporto NAA/Cho sono state

dimostrate anche in pazienti che presentavano Sclerosi Temporale Mesiale (STM), rafforzando l'evidenza che la STM è un processo che non riguarda solo anomalie focali di struttura. (Shih et al., 2011).

Altri studi recenti sulle epilessie del lobo temporale, hanno utilizzato metodiche di spettroscopia di RM al fine di gettare luce sull'associazione tra anomalie dei metaboliti cerebrali (in termini di concentrazione) e farmaco resistenza (Campos et al., 2010, Cendes, 2011). Questi autori ritengono che la riduzione della concentrazione dell'NAA, in pazienti con crisi del lobo temporale associate ad atrofia degli ippocampi e che non rispondono alla terapia farmacologica, possa essere considerato un fattore prognostico negativo. La prognosi infausta quindi non sarebbe causata dalla sola atrofia degli ippocampi, rimarcando anche in questo caso che l'alterazione è a più livelli, sia strutturale che metabolico e che entrambi potrebbero essere utilizzati, in un futuro, come fattori predittivi di farmaco resistenza fin dall'esordio delle crisi (Cendes 2011).

Infine, poca letteratura e non molto recente, riguarda studi di  $^1\text{H-MRS}$  ed epilessie non generalizzate o non temporali (epilessie extratemporali). In particolare per quanto riguarda crisi ad origine dalle strutture frontali, due lavori (Stanley et al. 1998, Lundbom et al., 2001), hanno studiato mediante spettroscopia di RM, pazienti con epilessia non lesionale del lobo frontale. Questi studi hanno mostrato un ridotto rapporto NAA/Cr o NAA/Cho nel lobo frontale sede del focus epilettogeno, rispetto alla regione omologa contro laterale e hanno dimostrato che, in generale, la  $^1\text{H-MRS}$  è in grado di lateralizzare un focus epilettogeno a livello fronto-parietrale in pazienti con un quadro di RM tradizionale negativo. Inoltre, i risultati di questi studi hanno dimostrato che la scarica critica deriva da una disfunzione neuronale diffusa che oltrepassa il focus epilettogeno rilevato dall' EEG e si diffonde al lobo frontale in cui non è presente il focolaio, e che possono essere presenti anche alterati rapporti tra metaboliti in aree lontane dal focus epilettogeno, nei pazienti rispetto ai controlli. Comunque, nonostante la presenza di molti dati sulle alterazioni metaboliche cerebrali in vari tipi di epilessia, non è ancora chiaro il legame tra le modificazioni



delle concentrazioni dei metaboliti con il meccanismo fisiopatologico sottostante (Richardson, 2010).

Attualmente non ci sono studi in letteratura che abbiano utilizzato metodiche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare, come spettroscopia, DTI, o imaging 3D ad alta risoluzione, con la finalità di identificare eventuali alterazioni cerebrali metaboliche o strutturali nei pazienti con EFN. Le complesse interazioni cortico-sottocorticali coinvolte nella genesi di una forma particolare di epilessia come l'EFN e nei disturbi dell'arousal sono quindi tuttora sconosciute.

# SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo progetto è di studiare le cause, fisiopatologiche e morfo-funzionali che sottendono ai fenomeni motori parossistici che insorgono durante il sonno, in particolare identificare alterazioni strutturali e/o metaboliche nei pazienti con Epilessia Frontale Notturna, studiati con tecniche avanzate di Risonanza Magnetica (RM)

Il motivo di questo interesse è prima di tutto clinico, poiché la diagnosi differenziale fra fenomeni notturni di tipo epilettico o di altra natura (ad esempio fenomeni di tipo parasonnico, o secondari a malattie neurodegenerative o ancora ad eziologia psichiatrica) è frequente, e spesso per giungere ad una diagnosi conclusiva occorrono esami lunghi e dispendiosi. La difficoltà è aumentata dal fatto che le manifestazioni motorie che caratterizzano queste condizioni, in particolare le forme epilettiche e quelle parasonniche, sono molto simili, facendo sospettare un coinvolgimento delle stesse aree cerebrali. Inoltre nei pazienti con EFN e nelle loro famiglie si ritrova un significativo numero di casi con parasonnie, facendo sospettare una predisposizione genetica che accomuna entrambe le situazioni.

Il fine ultimo è quello di poter fornire informazioni utili alla comprensione della fisiopatologia ed eziopatogenesi dell'EFN, alla caratterizzazione di eventuali sottogruppi accomunati dalla stesso quadro sindromico di EFN, alla ricerca di marcatori RM utili alla diagnosi differenziale con altri disturbi parossistici del sonno non epilettici.

- Obiettivi primari
  - Studiare, per ogni paziente con Epilessia Frontale Notturna, le caratteristiche cliniche, elettrofisiologiche critiche e intercritiche, e neuroradiologiche per cercare di definire le strutture cerebrali coinvolte nella genesi di questi episodi

- Definire, tramite indagini di Risonanza Magnetica (morfologica e funzionale), l'interessamento di strutture cerebrali corticali o sottocorticali ed eventuali modificazioni metaboliche responsabili della genesi dei fenomeni critici
- Obiettivi secondari
- Cercare di dare una interpretazione neurofisiopatologica che tenga conto anche delle conoscenze sui recettori cerebrali coinvolti nell'EFN

# MATERIALI E METODI

Lo studio si è articolato su quattro fasi successive che hanno previsto:

- 1) La raccolta prospettica e retrospettiva della casistica, attraverso la ricostruzione clinica degli episodi critici notturni, filmati home-video e registrazioni polisonnografiche di una coorte di pazienti afferenti al Centro Epilessia e al Centro per i disturbi del Sonno del Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Bologna.

La popolazione oggetto dello studio è stata costituita da pazienti noti, con diagnosi certa di Epilessia Frontale Notturna, basata su criteri clinici e videopolisonnografici, partendo da un pool di pazienti afferiti presso il Centro Epilessia e il Centro per i disturbi del Sonno del Dipartimento di Scienze Neurologiche, negli ultimi 20 anni di attività. Sono state rivalutate tutte le cartelle cliniche dei pazienti possibili candidati allo studio che avevano già ricevuto la diagnosi finale di epilessia con crisi frontali notturne. Sono stati inclusi nello studio solo i pazienti nei quali gli episodi sono stati registrati in Video-EEG e che possedevano una documentazione neurofisiologica e neuroradiologica completa.

Sono stati inclusi inoltre pazienti giunti per una prima visita ambulatoriale in un periodo compreso tra Gennaio 2010 e Ottobre 2012, ai due Centri sopra menzionati. Questi pazienti sono stati successivamente ricoverati per ottenere una diagnosi di certezza circa la presenza di episodi parossistici che si verificano durante il sonno. Sono stati quindi sottoposti ad una dettagliata anamnesi clinica, ad una accurata anamnesi farmacologica e ad una approfondita indagine circa la possibile familiarità degli episodi. A questi pazienti è stato chiesto, se possibile, di effettuare una registrazione video degli episodi a casa, prima del ricovero.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame elettroencefalografico (EEG) e a videopolisonnografia (VPSG) utilizzando telecamere a circuito chiuso ed un monitoraggio split-screen audiovisivo continuo, dal momento in cui il paziente si corica a letto fino ad un'ora dopo il risveglio. Questo

esame è stato effettuato sotto diretto controllo di un tecnico qualificato per tutto il tempo di registrazione.

Nel corso della VPSG sono registrati vari parametri tra cui:

- due o più canali EEG, le informazioni provenienti dall'elettroencefalogramma (EEG) vengono utilizzate, in questo tipo di registrazione, prevalentemente nella differenziazione dei vari stadi del sonno (sonno REM e sonno NREM);
- l'elettrooculogramma (EOG) viene registrato per individuare i movimenti degli occhi utili nella stadiazione del sonno;
- canali elettromiografici (EMG), per valutare il tono muscolare e le risposte arousal vengono utilizzati i muscoli submentonieri (muscolo miloioideo) e i muscoli degli arti (deltoide e tibiale anteriore) bilateralmente;
- vari parametri respiratori, tra cui i movimenti di torace e addome, che possono essere registrati mediante pletismografia ad impedenza o ad induttanza, trasduttori pneumatici, EMG intercostale, il flusso oronasale, che viene comunemente registrato mediante termocoppia o termistore posto in prossimità di ciascuna narice e della bocca, e la saturazione di ossigeno nel sangue (SpO<sub>2</sub>) che viene monitorata mediante pulsossimetro; tale metodica rappresenta lo standard per la valutazione non invasiva continua della saturazione arteriosa di ossigeno.
- l'elettrocardiogramma (ECG).

La lettura dei tracciati poligrafici è stata eseguita da medici esperti in elettroencefalografia, epilettologia e medicina del sonno.

Anche in questo caso, sono stati inclusi nello studio solo i pazienti di nuova diagnosi nei quali gli episodi sono stati registrati in Video-EEG, che hanno ricevuto una diagnosi di EFN e che possedevano una documentazione neurofisiologica e neuroradiologica completa.

I pazienti, per essere arruolati nello studio dovevano possedere i seguenti criteri di inclusione: maggiore età, assenza di lesioni cerebrali, assenza di ritardo mentale, registrazione di almeno un

episodio parossistico notturno “maggiore”, cioè con caratteristiche ipermotorie o toniche bilaterali asimmetriche, oppure almeno due episodi “minori” stereotipi di paroxysmal arousals.

- 2) La costruzione degli alberi genealogici dei pazienti affetti effettuata attraverso un approfondimento clinico e anamnestico allo scopo di individuare famigliari affetti. Per ogni paziente è stato costruito l'albero genealogico e, dopo aver ottenuto il consenso informato, sono stati prelevati campioni di sangue periferico per analisi genetiche molecolari dei geni CHRNA4, CHRNA2, CHRNB2 implicati in questa forma di epilessia.
- 3) La definizione delle aree cerebrali coinvolte nella genesi dei fenomeni sia nei pazienti di nuova diagnosi che in quelli con diagnosi nota, ottenuta mediante una revisione dei dati clinici, dei filmati video e delle registrazioni polisonnografiche degli episodi critici notturni, condivisa, dopo discussione collegiale, da esperti epilettologi, sonnologi e in qualche caso da esperti di neurochirurgia dell'epilessia.

Per fare questo sono stati revisionati i dati clinici di tutti i pazienti esaminati inclusi i documenti radiologici (TAC e Risonanza Magnetica Nucleare) e gli esami neuropsicologici. Sono stati rivalutati i tracciati EEG e poligrafici intercritici e tutte le polisonnografie sia diurne che notturne eseguite da ogni paziente allo scopo di descrivere nei dettagli la tipologia del sonno, con metodi anche quantitativi (score: percentuali delle fasi di sonno, numero di arousal per ora di sonno, caratteristiche degli arousal, analisi spettrale EEG). Per ogni episodio registrato è stata effettuata una analisi EEG, polisonnografica e analisi video per descrivere la semeiologia degli episodi. Ogni paziente è stato discusso collegialmente allo scopo di descrivere nei minimi dettagli la correlazione fra il pattern motorio nella sua sequenza e nelle sue caratteristiche cliniche e le modificazioni del tracciato EEG, al fine di definire le caratteristiche dell'arousal che precedono l'episodio e la zona cerebrale attivata elettricamente durante l'episodio. Si è cercato poi di fare una correlazione di questa zona funzionale con i dati neuroradiologici, neuropsicologici e clinici e definizione della zona epilettogena.

4) Lo studio da parte dell'Unità di Ricerca del Dipartimento di Medicina Interna, dell'Invecchiamento e Malattie Nefrologiche, Bologna, il cui compito è stato quello di indagare il ruolo che alterazioni, metaboliche e/o microstrutturali di strutture sia corticali che sottocorticali, giocano nella fisiopatologia della EFN. Questo è stato possibile grazie a tecniche avanzate di risonanza magnetica che hanno incluso la spettroscopia di risonanza magnetica del protone ( $^1\text{H-MRS}$ ), il tensore di diffusione (DTI) ed l'imaging 3D ad alta risoluzione per analisi morfometriche comprendenti la voxel-based morphometry (VBM).

Oltre ai pazienti con EFN selezionati, sono stati arruolati e studiati mediante  $^1\text{H-MRS}$  volontari sani di età ( $\pm 5$  anni), sesso e numero corrispondente ai pazienti esaminati.

## **PROTOCOLLO RM**

Tutti i pazienti ed i controlli sani sono stati studiati in uno scanner di 1.5T General Electric Medical Systems (Milwaukee, Wisconsin) Signa Horizon LX , con bobina encefalo phased-array a 8 canali. (*Figura 1*). L'intero protocollo di studio RM ha avuto una durata di circa un'ora e 15 minuti.

Protocollo:

1) imaging 3D ad alta risoluzione (3D FSPGR T1); assiali FLAIR T2, coronali FSE T2, diffusione del tensore (DTI) sul piano assiale (32 direzioni del gradiente di diffusione) (*Figura 2*);

2) Spettroscopia di RM del protone ( $^1\text{H-MRS}$ ) con tecnica a voxel singolo (PRESS). Sono stati prescritti due volumi di interesse (VOI), uno localizzato nei talami ed uno nel giro del cingolo anteriore (*Figure 3 e 4*). I VOI sono stati localizzati sulle immagini volumetriche ad alta risoluzione pesate in T1, acquisite sul piano assiale e ricostruite sul piano sagittale e coronale. In entrambi i VOI è stato acquisito uno spettro a tempo di eco breve (TE = 35 ms; TR = 4 s; numero di acquisizioni = 128). Il segnale dell'acqua è stato soppresso con la sequenza CHESS (Chemical Shift Selective). Le aree dei picchi di N-acetil-aspartato (NAA) a 2.02 parti per milione (ppm), creatina-fosfocreatina (Cr, la cui concentrazione è molto stabile e quindi utilizzato come riferimento) a 3.03

ppm, colina a 3.22 e mio-inositolo a 3.56 ppm, sono state calcolate utilizzando il programma di fitting nel dominio del tempo LCModel. I valori dei picchi dei diversi metaboliti sono stati espressi come rapporto relativo alla creatina/fosfocreatina (*Figure 5 e 6*).

Inoltre sono stati acquisiti degli spettri senza soppressione dell'acqua negli stessi VOI ed usando le stesse sequenze, in modo da quantificare le concentrazioni dei metaboliti utilizzando l'acqua tissutale come riferimento interno assoluto. Le concentrazioni sono state riportate in millimoli.

Per la valutazione della qualità del segnale RM dei metaboliti, oltre all'analisi visiva, è stato utilizzato un parametro ottenuto automaticamente, e stabilito che uno spettro con un errore nel fitting del sistema di analisi di LCModel stimato superiore 20%, fosse da escludere per inadeguata qualità.

## **SCelta DEI VOLUMI DI INTERESSE (VOI) DA STUDIARE**

La scelta di studiare con particolare attenzione le strutture talamiche è stata dettata dal fatto che l'EFN si presenta con crisi che insorgono quasi sempre dallo stadio 2 del sonno NREM, stadio caratterizzato da spindle, figure neurofisiologiche del sonno che originano nel talamo ed esprimono oscillazioni talamo corticali. L'eventuale presenza di alterazioni strutturali e/o metaboliche in queste regioni sembra particolarmente interessante nel contesto di un disordine del sonno. Quindi alterazioni di queste zone possono essere implicate in disordini dell'arousal. (Vercueil and Hirsch 2002; Picard et al., 2006; Fedi et al., 2008).

Riguardo la scelta del cingolo anteriore, questa è una regione di interesse che fa parte del Default Mode Network (DMN) (Raichle et al., 2001). Il DMN è costituito da aree cerebrali che formano una rete neuronale funzionale, recentemente scoperta, che risulta attivata durante la veglia rilassata. Sebbene la funzione del DMN sia ancora poco conosciuta, si ipotizza che la sua attività serva per metabolizzare la maggior parte dell'energia necessaria al cervello ed è stata implicata in una grande varietà di processi sia fisiologici che patologici. Nell'uomo, il DMN comprende la corteccia del cingolo, la corteccia pre-frontale mediale, il lobo temporale mediale, e il giro angolare



(Raichle et al., 2001; Raichle 2010). Si pensa inoltre che il DMN, insieme alle reti dorsali, sia coinvolto nella generazione del movimento e nella percezione cosciente della scelta dei movimenti da compiere (Soon et al., 2008).

La scelta di questo VOI quindi, potrebbe rappresentare un “bias” di questo studio, tuttavia in base ad una revisione della letteratura il coinvolgimento del cingolo nelle crisi frontali è ampiamente documentato sia nei primati (Devinsky et al., 1995; Paus 2011) che nell’uomo (Biraben et al., 2001; Nobili et al 2003; Nobili et al 2004). Inoltre un recente studio neurofisiologico effettuato con elettrodi intracerebrali di profondità evidenzia che nei pazienti con EFN il giro del cingolo anteriore è la regione più frequentemente coinvolta all’esordio della scarica critica (82%), seguita dalla corteccia orbitofrontale (45%), la corteccia frontopolare (27%) e l’area premotoria mesiale (18%). (Rheims et al.. 2008)., di conseguenza abbiamo scelto comunque di investigare questa zona.

## **ETICA**

Lo studio è stato sottoposto a valutazione da parte del Comitato Etico Indipendente di Bologna (Codice CE: 10077, Protocollo n° 1244 CE) ed ha ottenuto parere favorevole in data 16/09/2010.

# RISULTATI

## DATI CLINICI

Partendo da un pool di 192 pazienti con diagnosi certa di Epilessia Frontale Notturna afferiti presso il Centro Epilessia e il Centro per i Disturbi del Sonno del Dipartimento di Scienze Neurologiche dell' Università di Bologna negli ultimi 20 anni di attività, ne sono stati selezionati 17 che hanno acconsentito, mediante firma del consenso informato, allo studio neuro radiologico morfologico e funzionale.

Sono stati inoltre arruolati 4 pazienti, previa firma del consenso, ai quali è stata posta diagnosi di Epilessia Frontale Notturna in un periodo compreso tra Gennaio 2010 e Dicembre 2012 per un totale di 21 pazienti inclusi. Tra questi, 2 sono stati eliminati dallo studio in quanto uno non è stato in grado di sostenere l'esame di RMN fin dall'inizio e un altro non è riuscito a portare a termine l'esame per un problema di claustrofobia.

Sono stati quindi inclusi nell'analisi finale dei risultati 19 pazienti (7 maschi e 12 femmine), con una età media di 34 anni (range 19-50) (*Tabella 1*).

L'età media di esordio della malattia era di 11,9 anni (range 3-26), due pazienti (10.5 %) avevano presentato anche convulsioni febbrili, uno fin dalla nascita e l'altro all'età di 4 anni prima di presentare crisi frontali notturne.

L'età media alla prima diagnosi di EFN era di 18.8 anni (range 3-39) e la durata media di malattia di questi soggetti era di 22 anni (range 0-41). Nove pazienti (47,4%) presentavano anche crisi diurne, in 6 pazienti l'esordio di crisi diurne e notturne coincideva, in due casi le crisi diurne sono iniziate prima di quelle notturne (rispettivamente 1 anno e 13 anni prima), in un solo paziente le crisi diurne sono iniziate 4 anni dopo quelle notturne.

Per quanto riguarda la semeiologia delle crisi, 9 pazienti (47.4%) presentavano crisi ipermotorie, 3 pazienti (15.8%) avevano crisi toniche bilaterali asimmetriche, 2 pazienti (10.5%) avevano crisi con caratteristiche ipermotorie associate ad arousals parossistici e in altri 2 le crisi

toniche bilaterali asimmetriche si associavano ad arousas parossistici, infine 3 pazienti presentavano tutti e tre i tipi di crisi.

La frequenza crisi al momento dello studio di risonanza magnetica era la seguente: 5 pazienti (26.3%) erano liberi da crisi da almeno un anno, 5 avevano crisi da mensili ad annuali, un solo paziente (5.3%) presentava crisi settimanali e in 8 pazienti (42.1%) permanevano crisi plurinotturne.

Tranne in un paziente che oltre alla EFN, presentava anche un quadro di emicrania senza aura, i restanti soggetti non presentavano comorbidità di tipo neurologico in atto.

Dieci (52,6%) dei pazienti inclusi presentavano familiarità positiva per epilessia, tra questi, 5 soggetti (50%) avevano familiarità positiva per epilessia non EFN, 3 pazienti (30%) avevano almeno un componente all'interno della propria famiglia che aveva ricevuto diagnosi di EFN e 2 pazienti (20%) avevano sia familiarità positiva per EFN che per altro tipo di epilessia.

In particolare tra i 5 pazienti che presentavano familiarità positiva per EFN inclusi nello studio, due pazienti erano sorelle e due pazienti erano madre e figlio. In undici pazienti (57,9%) era inoltre presente una familiarità positiva anche per parasonnie.

Per quanto riguarda la terapia antiepilettica, al momento dell'arruolamento 7 pazienti (36,8%) assumevano una politerapia, 11 pazienti (57,9%) assumevano una monoterapia e solo un paziente (5,3%) non assumeva nessun farmaco.

In otto di questi pazienti (42%) sono già state condotte indagini genetiche mirate a verificare la presenza di mutazioni a carico di almeno uno dei tre geni certamente coinvolti in questo tipo di epilessia (CHRNA4, CHRNB2, CHRNA2), ma tutti sono risultati negativi per queste mutazioni.

Dei 19 esami RM acquisiti in volontari sani, 5 sono stati esclusi dallo studio per una non ottimale qualità delle immagini, principalmente dovuta ad artefatti da movimento. Sono stati quindi inclusi nell'analisi finale dei risultati 14 controlli (6 maschi e 8 femmine) con un'età media di 30 anni (range 19-40).

## **RISULTATI RMN**

Per quanto riguarda i risultati della RMN dei soggetti esaminati, 12 pazienti hanno presentato un quadro completamente privo di elementi patologici, 7 soggetti invece (36.8%), hanno mostrato alcune alterazioni.

In particolare, due pazienti presentavano anomalie aspecifiche della sostanza bianca emisferica sottocorticale caratterizzate da puntiformi focolai iperintensi in sede frontale sinistra in un caso e destra nell'altro, una paziente presentava una alterazione di segnale lineariforme presente nella sostanza bianca frontale profonda sinistra, verosimile espressione di anomalia di sviluppo venoso, in un paziente era presente un quadro encefalico con alterazioni a carico della sostanza bianca periventricolare compatibili con esiti da sofferenza pre-perinatale, e in altri due pazienti erano presenti anomalie verosimilmente compatibili con un quadro di sofferenza vascolare. In un solo caso, tra i pazienti prospettici arruolati, è emersa la presenza di una displasia corticale in corrispondenza della parte anteriore del solco frontale superiore di destra.

## **ANALISI STATISTICA (<sup>1</sup>H-MRS)**

Per l'analisi dei dati di <sup>1</sup>H-MRS sono stati utilizzati test parametrici, dal momento che il test di Kolmogorov–Smirnov ha evidenziato una distribuzione gaussiana dei valori ottenuti. Per il confronto tra il gruppo di pazienti e quello di volontari sani sia delle concentrazioni assolute dei vari metaboliti sia dei rapporti dei differenti metaboliti con la creatina, è stato utilizzato il T-test di Student. Sono stati considerati significativi solo i valori di  $p < 0,05$ , dopo correzione di Bonferroni per comparazioni multiple (x7).

Per valutare eventuali correlazioni tra caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con i parametri metabolici ottenuti con la <sup>1</sup>H-MRS, risultati significativamente diversi rispetto ai volontari sani, sono stati utilizzati modelli di regressione multipla. Come variabile dipendente è stato considerato il valore del metabolita (per esempio NAA/Cr a livello del cingolo anteriore) e

come variabili indipendenti l'età, il sesso, la durata di malattia, la frequenza delle crisi (0/1 per anno o plurisettimanali/plurigiornaliere), il tipo di crisi (ipermotorie, toniche bilaterali asimmetriche, arousals parossistici) e la terapia (monoterapia o politerapia). Per ogni modello è stato utilizzato un metodo a ritroso ("backward"), in cui ogni variabile indipendente viene eliminata, fino all'ottenimento di un modello con un valore di  $p < 0,05$  ed in cui ogni variabile indipendente ha un coefficiente di correlazione associato ad una significatività di  $p < 0,05$ .

## **RISULTATI <sup>1</sup>H-MRS**

A livello del cingolo anteriore il rapporto della concentrazione di N-Acetil Aspartato rispetto alla Creatina (NAA/Cr) è risultato significativamente ridotto nei pazienti rispetto ai controlli sani esaminati ( $1,23 \pm 0,11$  vs  $1,38 \pm 0,13$ ;  $p = 0,021$ ). Non è stata evidenziata una differenza significativa relativa agli altri metaboliti (*Tabella 2*).

A livello del talamo nei pazienti non è stata riscontrata alcuna differenza significativa nel contenuto dei diversi metaboliti, rispetto ai controlli sani (*Tabella 3*).

Relativamente all'analisi di correlazione, l'analisi tramite modelli di regressione multipla ha evidenziato che il rapporto NAA/Cr nel cingolo anteriore nei pazienti correlava con la frequenza delle crisi (beta  $-0.473$ ;  $p = 0,048$ ), essendo più basso nei pazienti con crisi plurisettimanali/plurigiornaliere (*Figura 7*).

# DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

In considerazione del fatto che attualmente non ci sono studi in letteratura che abbiano utilizzato metodiche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare come spettroscopia, DTI, o imaging 3D ad alta risoluzione, nei pazienti con Epilessia Frontale Notturna, l'obiettivo principale dello studio è stato quello di ricercare, tramite indagini di Risonanza Magnetica (morfologica e funzionale), l'interessamento di strutture cerebrali corticali o sottocorticali ed eventuali modificazioni metaboliche responsabili della genesi di questi fenomeni critici.

Questo lavoro rappresenta il primo studio sia retrospettivo che prospettico di una popolazione di pazienti in cui è stata posta diagnosi di Epilessia Frontale Notturna e che sono stati sottoposti a indagini mediante avanzate tecniche di RM.

Il pool di pazienti ha compreso 19 soggetti. Tutti sono stati sottoposti ad una prima valutazione clinico-strumentale avvenuta in regime di ricovero. Al termine di questa valutazione, è stato possibile giungere ad una diagnosi definitiva di EFN in tutti i pazienti e successivamente è stato loro proposto di effettuare approfondite indagini di RM.

Prima di tutto è stato utilizzato un approccio multimodale per valutare la possibile presenza di anomalie strutturali e/o microstrutturali in termini di volume e/o alterazioni dei parametri DTI, mediante imaging 3D ad alta risoluzione (3D FSPGR T1); assiali FLAIR T2, coronali FSE T2 e diffusione del tensore (DTI) sul piano assiale (32 direzioni del gradiente di diffusione).

Nella nostra casistica esaminata, il 31.6% dei soggetti presentava delle alterazioni aspecifiche alla RMN, mentre un solo caso (5.3%) presentava una anomalia specifica, verosimilmente responsabile dell'insorgenza della EFN, caratterizzata da displasia corticale in corrispondenza della parte anteriore del solco frontale superiore di destra. Questo dato è sostanzialmente in linea con quanto riportato in letteratura (Provini et al., 1999) e rafforza l'ipotesi che alla base dell'insorgenza della EFN ci sia nella maggior parte dei casi un meccanismo "funzionale".

E' stata poi effettuata la spettroscopia di RM del protone (<sup>1</sup>H-MRS) con tecnica a voxel singolo (PRESS) su due volumi di interesse (VOI), uno localizzato nei talami ed uno nel giro del cingolo anteriore ed è emerso che a livello del cingolo anteriore il rapporto della concentrazione di N-Acetil Aspartato rispetto alla Creatina (NAA/Cr) è risultato significativamente ridotto nei pazienti rispetto ai controlli sani esaminati. Inoltre relativamente all'analisi di correlazione, l'analisi tramite modelli di regressione multipla ha evidenziato che il rapporto NAA/Cr nel cingolo anteriore nei pazienti, correlava con la frequenza delle crisi, essendo più basso nei pazienti con crisi plurisettimanali/plurinotturne rispetto ai pazienti con crisi pluriannuali/annuali o liberi da crisi.

Non essendoci attualmente studi sovrapponibili in letteratura, per interpretare il dato ottenuto è possibile solo fare delle speculazioni. L'NAA è un marker di integrità, di densità e di funzionalità neuronale (Kantarci et al., 2008; Hamman e Kuzniecky 2012). Il giro del cingolo nella sua porzione anteriore ha una funzione inibitoria sulla attività motoria (Mazars 1970; Talairach et al., 1973), in particolare appare coinvolto nella selezione di appropriate risposte motorie ad uno stimolo e nella pianificazione della sequenza dei movimenti da compiere (Devinsky et al., 1995; Isomura et al., 2004). Data la riduzione della concentrazione dell' NAA riscontrata nella nostra casistica, si potrebbe ipotizzare che ci sia una diminuzione della densità neuronale a livello del cingolo anteriore, oppure che il numero di neuroni sia adeguato, ma che questi siano ipofunzionanti. Un'altra ipotesi è quella per cui il cingolo anteriore in questi pazienti potrebbe essere primitivamente disfunzionante, oppure che la sua funzione sia resa deficitaria dall'elevato numero di crisi, e questo sarebbe supportato dal riscontro di una correlazione significativa tra la riduzione del rapporto NAA/Cr e l'elevata frequenza delle crisi.

Non possiamo inoltre escludere l'eventuale effetto dei farmaci sull'ipometabolismo trovato nei pazienti rispetto ai controlli, considerata l'omogeneità dei farmaci assunti (quasi tutti i pazienti infatti assumevano carbamazepina) e la piccola dimensione del campione. Indipendentemente dall'origine delle scariche critiche, in questi soggetti la via finale comune sembra essere una

disfunzione del cingolo anteriore che, durante le crisi frontali notturne, si manifesterebbe con una mancata inibizione sulla attività motoria.

Per ulteriori ipotesi interpretative, è possibile fare riferimento a lavori che hanno utilizzato metodiche quali la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) o la Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT).

Picard et al., mediante uno studio PET ha utilizzato come tracciante un agonista ad alta affinità ([18F]-F-A-85380) per comparare la densità cerebrale dei recettori nicotinici in un gruppo di pazienti con ADNFLE e mutazioni note per le sub unità  $\alpha 4$  e  $\beta 2$  del recettore stesso, rispetto ad un gruppo di controllo. Da questo studio è emersa un' aumentata densità dei recettori nicotinici a livello dell'ipotalamo, del mesencefalo ventrale e del cervelletto, ma una ridotta densità a livello della regione prefrontale dorsolaterale destra. Inoltre in cinque di questi pazienti, che erano stati sottoposti ad uno studio PET addizionale con [18F]-fluorodesossiglucosio (FDG), è stato osservato un ipometabolismo a livello delle aree limitrofe alla corteccia orbito-frontale destra. Gli autori interpretano questo risultato commentando il fatto che una ridotta attività recettoriale, porta ad una minore attività sinaptica e di conseguenza ad una riduzione dell'attività neuronale che si manifesta con un quadro di ipometabolismo (Picard et al., 2006).

Un altro recente studio PET effettuato sempre su pazienti con EFN associata alla mutazione  $\alpha 4$ -Ser248Phe nel gene per la subunità  $\alpha 4$  (CHRNA4) del recettore per l'acetilcolina ha evidenziato una ridotta captazione di un marcatore specifico per i recettori D1 ([11C]-SCH23390) a livello del corpo striato (Fedi et al., 2008). Tale dato, interpretato con differenti spiegazioni (elevato livello di dopamina extracellulare, down-regulation dei recettori dopaminergici, riduzione dell'innervazione dopaminergica, riduzione dei neuroni striatali), sottolinea l'importanza del controllo striatale sulle proiezioni talamo-corticali che proiettano alla corteccia frontale.

E' importante sottolineare il fatto che questi studi sopra menzionati includono pazienti con ADNFLE e mutazioni note del recettore nicotinico. Nella casistica di questo lavoro invece, nessuno dei pazienti sottoposto ad indagini genetiche presentava le mutazioni note dei geni che codificano



per i nAChR. Questo avvalorava l'ipotesi che nell'eziopatogenesi della EFN, oltre alle mutazioni note del recettore nicotinico dell'ACh, intervengano altre mutazioni al momento ancora sconosciute e meccanismi ambientali e funzionali, rendendo l'EFN una malattia poligenica e multifattoriale come molte altre sindromi epilettiche (Ottman 2005).

Per quanto riguarda studi SPECT, alcuni sono stati effettuati in pazienti con EFN durante episodi critici e hanno mostrato la presenza di una iperattivazione delle regioni del cingolo anteriore, mettendo in evidenza una iperperfusione di queste aree durante le crisi (Bassetti et al., 2000; Shindler et al., 2001; Vetrugno et al., 2005). Questi dati sembrano rafforzare il fatto che ci sia una iperfunzione critica e una ipofunzione intercritica di questa zona cerebrale (Hayman et al., 1997) e confermano il ruolo del giro del cingolo nel dirigere non soltanto l'attività motoria, ma anche la vocalizzazione e le risposte autonome nei pazienti con EFN (Seto et al., 1997).

Prendendo in considerazione precedenti studi di  $^1\text{H}$ -MRS, in due lavori (Stanley et al., 1998; Lundbom et al., 2001) è stato valutato il metabolismo cerebrale in pazienti con crisi ad origine dal lobo frontale e fronto-parietale. Sebbene non siano studi mirati a specifiche zone selezionate del lobo frontale e i pazienti valutati non siano affetti da EFN, entrambi hanno dimostrato che a livello del focus epilettogeno, precedentemente individuato mediante EEG, vi era un aumento di Cho e Cr e una riduzione di NAA, segno di disfunzione sia del pool gliale che neuronale. Gli autori hanno dimostrato inoltre che questa alterazione metabolica era presente anche nelle aree omologhe controlaterali. Questo rafforza l'ipotesi della presenza di un danno neuronale diffuso, che si manifesta con modificazioni metaboliche, che oltrepassa la sede del focolaio critico e potrebbe corrispondere alla diffusione della scarica.

A rimarcare queste ipotesi per cui nell'ambito di epilessie focali sembra esserci un ampio coinvolgimento di circuiti neuronali, ci sono studi recenti che utilizzano metodologie di fusione EEG-fMRI al fine di individuare, con precisione e con metodiche non invasive, aree epilettogene responsabili di crisi focali. Mediante questi studi si sta chiarendo sempre di più il concetto che scariche critiche o intercritiche possono coinvolgere aree cerebrali che vanno ben oltre la regione in

cui si presume che esse si generino, costituendo un “network” epilettogenico che ha una via finale comune (Gotman 2008).

In particolare Fahoum et al. hanno effettuato uno studio di EEG-fMRI in tre gruppi di pazienti con crisi focali del lobo temporale, del lobo frontale e del quadrante posteriore (temporo-parieto-occipitale, occipitale, parietale, temporo-parietale e temporo-occipitale). Questo studio mette in luce diffuse attivazioni e disattivazioni al di fuori del focus epilettogeno in tutti e tre i gruppi di pazienti studiati, ma in particolare nei pazienti con crisi del lobo frontale è stata evidenziata l’attivazione di una rete corticale-sottocorticale distinta, costituita dal giro del cingolo (medio), dall’opercolo frontale, dal talamo, dal cervelletto e dalla capsula interna, suggerendo che scariche intercritiche provenienti da diverse regioni frontali, coinvolgono una rete neuronale comune (Fahoum et al., 2012).

Alla luce di queste recenti acquisizioni, per interpretare ulteriormente il nostro risultato non possiamo escludere l’effetto della presenza di eventuali anomalie epilettiformi intercritiche. Non è dimostrabile infatti che durante l’esecuzione della <sup>1</sup>H-MRS i pazienti studiati non abbiano presentato scariche intercritiche. Riguardo questa ipotesi, è stato dimostrato mediante studi di EEG-fMRI sia nelle epilessie generalizzate (Gotman et al., 2005) sia nelle epilessie focali (Laufs et al., 2007; Fahoum et al., 2012; Pittau et al., 2012), che le modificazioni metaboliche correlate alle anomalie epilettiformi consistono in un diminuito metabolismo nelle regioni del default mode network (DMN) fino ad una sua inattivazione. Poichè il nostro volume di interesse, rappresentato dal cingolo anteriore, è incluso in questo network funzionale, si potrebbe ipotizzare che il ridotto rapporto di NAA/Cr riscontrato, possa essere dovuto alla presenza di anomalie intercritiche. Anche questa ipotesi sarebbe rafforzata dal fatto che il diminuito metabolismo è correlato con la frequenza delle crisi, quindi è plausibile pensare che nel momento dell’acquisizione delle immagini di spettroscopia i pazienti, e in particolare quelli con crisi plurinotturne e plurisettimanali, avessero un focus epilettico particolarmente attivo.

Questo lavoro accresce la suggestione che alla base del meccanismo eziopatogenetico della EFN ci siano molti fattori che giocano ruoli importanti. Tra questi, sono da annoverare alterazioni funzionali di reti neuronali che contribuiscono alla diffusione delle scariche critiche coinvolgendo diverse aree cerebrali che convogliano a livello delle strutture frontali e modificazioni del metabolismo tissutale in precise strutture facenti parte del lobo frontale, come il giro del cingolo anteriore.

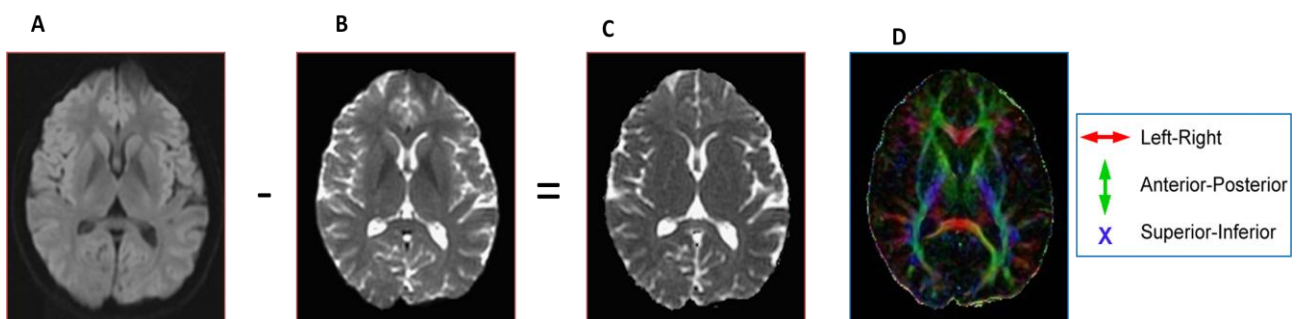
Questo apre nuove strade sul possibile utilizzo di strumenti di indagine basati su metodologie avanzate di analisi di biosegnali, al fine di contribuire alla caratterizzazione di aree coinvolte nella genesi della EFN ancora largamente sconosciute e di chiarire sempre meglio l'eziologia di questo tipo di epilessia.

# FIGURE E TABELLE

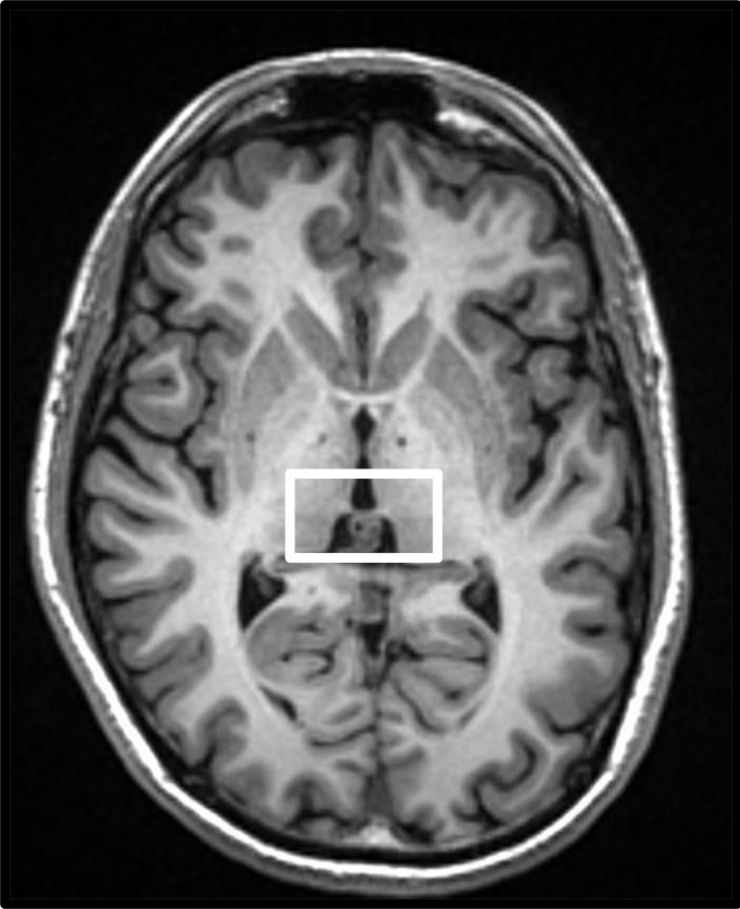
**Figura 1.** Scanner da 1.5T General Electrics Medical Systems (Milwaukee, Wisconsin) Signa Horizon LX



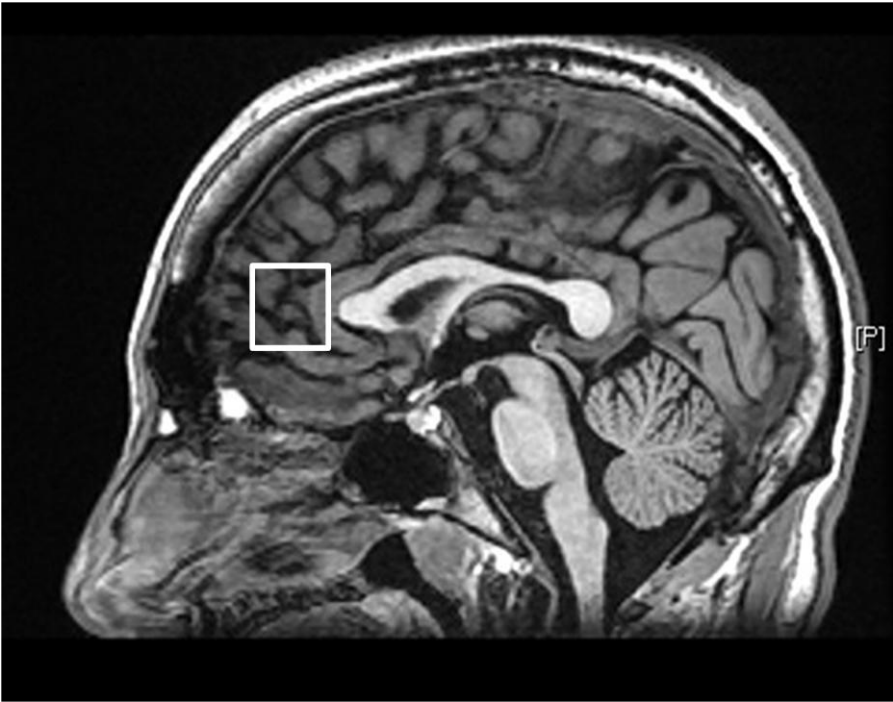
**Figura 2.** Illustrazione schematica dell'acquisizione DTI per il calcolo della diffusività media (MD) e della anisotropia frazionale (FA) delle molecole di acqua in un determinato volume di tessuto. A: immagine di DTI. B: immagine pesata in T2. C: mappa quantitativa MD. D: mappa quantitativa FA



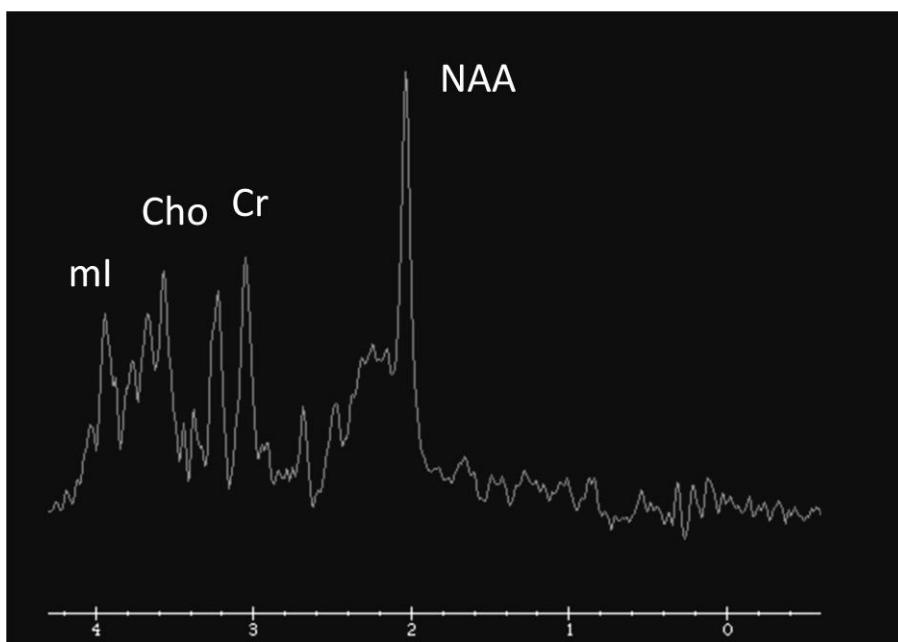
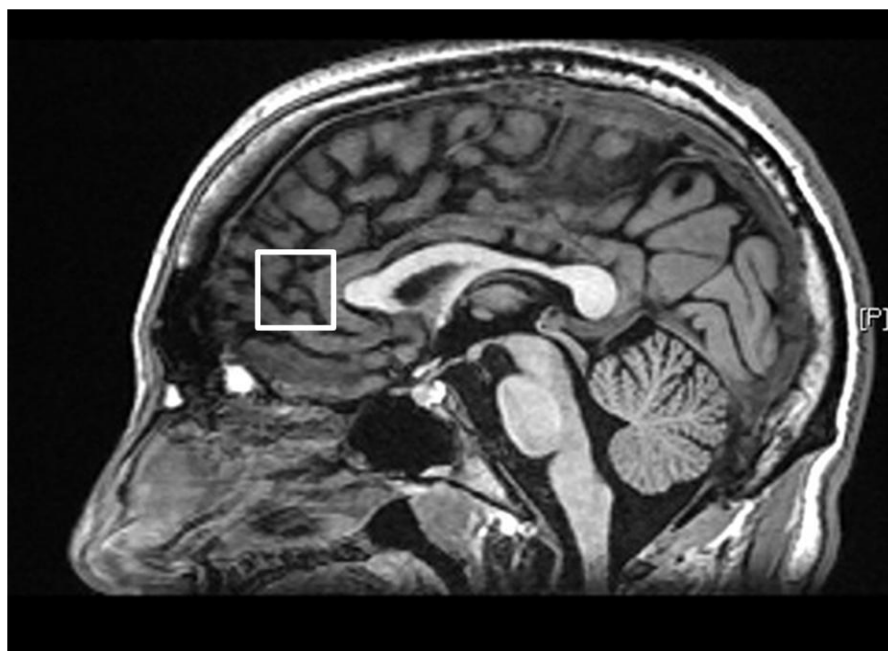
**Figura 3.** Localizzazione del volume di interesse (VOI) dei talami mediali bilaterali per studio di  $^1\text{H}$ -MRS



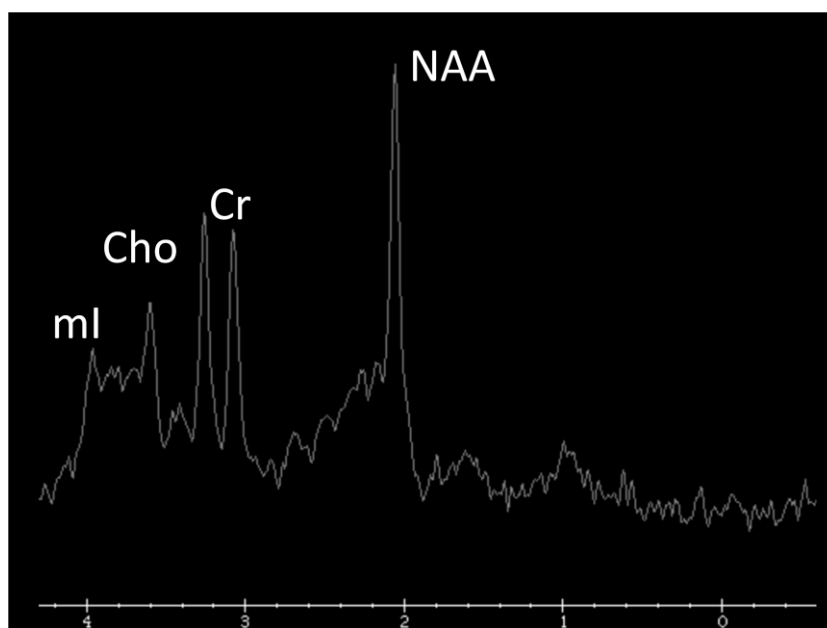
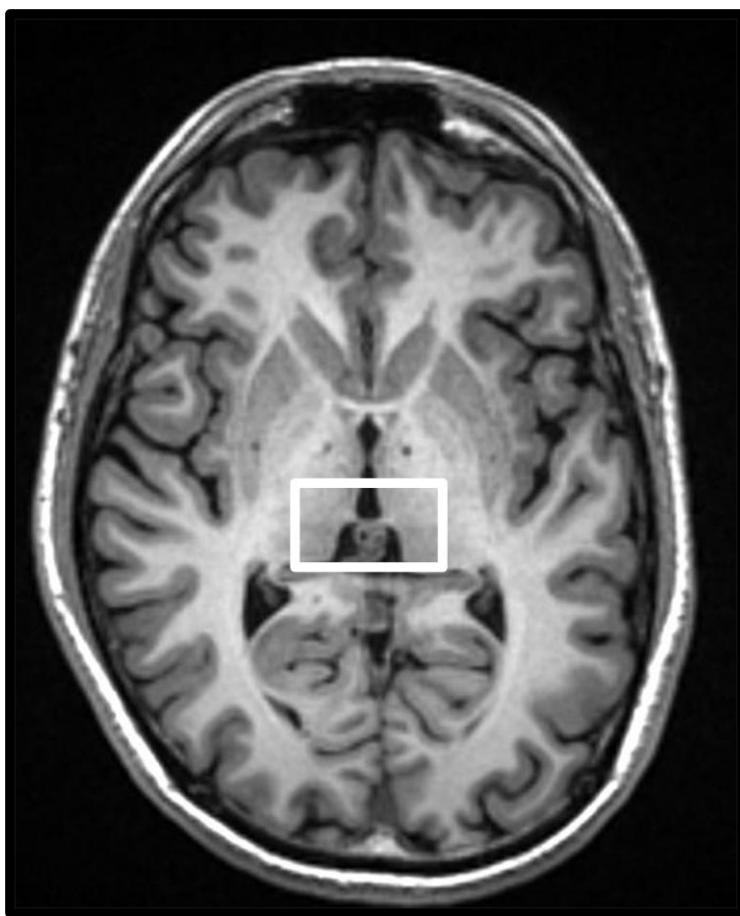
**Figura 4.** Localizzazione del volume di interesse (VOI) del cingolo anteriore per studio di  $^1\text{H}$ -MRS



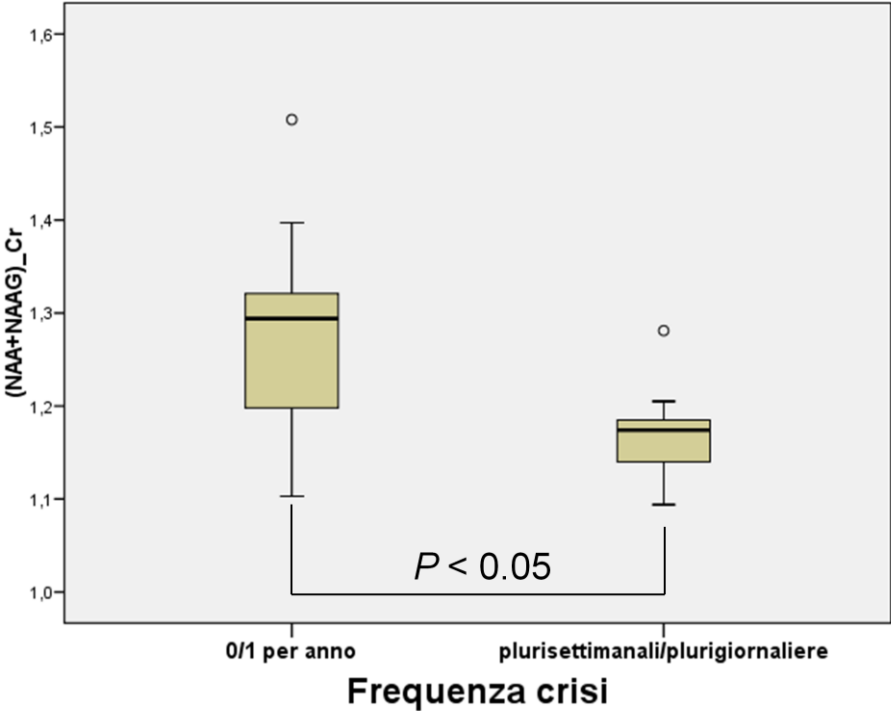
**Figura 5.** Localizzazione del volume di interesse (VOI) del cingolo anteriore per studio di  $^1\text{H}$ -MRS ed esempio di spettro in un paziente. NAA: N-acetil-aspartato, Cr: Creatina, Cho: Colina, ml mio-Inositolo



**Figura 6.** Localizzazione del volume di interesse (VOI) dei talami mediali bilaterali per studio di  $^1\text{H}$ -MRS ed esempio di spettro in un paziente. NAA: N-acetil-aspartato, Cr: Creatina, Cho: Colina, mI mio-Inositolo



**Figura 7 .** Grafico in cui vengono riportati i diversi livelli di NAA/Cr nei pazienti con crisi rare (0/1 per anno) rispetto ai pazienti con crisi frequenti (plurisettimanali/plurinotturne).





**Tabella 1.** Dati clinici

Pz., Età	Età esordio EFN	Crisi diurne (età esordio)	CF	Età 1° diagnosi	Durata malattia	Semeiologia Crisi	Frequenza crisi	Familiarità epilessia	Familiarità parassonnie	Terapia mg/die
M, 39	15	-	-	35	25	Hyper	Libero da crisi	no	no	CBZ 400
F, 29	9	Si (9)	-	13	19	Dyst. Asimm.	Libera da crisi	no	si	LTG 500
M, 25	8	-	-	13	5	Dyst. Asimm	Libero da crisi	no	si	CBZ 200
F, 50	11	Si (15)	-	11	41	Hyper	4-5/mese	no	no	OXC 1500 CLB 20
F, 27	15	Si (15)	-	15	12	Hyper	Plurinotturne	no	si	OXC 1500; TPM 250
F, 33	7	Si (6)	-	7	27	Hyper Dyst. Asimm Arousals parox	Plurinotturne	no	no	CBZ CR 1200
F, 41	10	-	-	26	32	Hyper Arousals	1-2/mese	si	si	OXC 900 CLB 10
M, 23	3	Si (3)	-	3	20	Hyper	Plurinotturne	si	no	CBZ 1000
M, 22	3	-	-	5	19	Hyper Dyst. Asimm Arousals	Plurinotturne	si	si	TPM 300 OXC 1200 CLB 30
M, 50	12	-	-	33	39	Hyper Arousals parox	Libero da crisi	si	no	OXC 900
M, 35	10	-	si	14	25	Hyper	Plurisettimanali	no	si	OXC 3000 PHT 300 LCS 250
F, 28	5	Si (5)	si	7	24	Hyper	1-2/notte	si	si	CBZ CR 1000
F, 49	26	-	-	39	23	Hyper	Plurinotturne	no	si	CBZ 600
F, 42	8	-	-	25	34	Dyst. Asimm.	Plurimensili /annuali	si	si	CBZ 600 TPM 200; CLB 10
F, 36	20	Si (7)	-	26	29	Hyper Dyst. Asimm Arousals	Mensili	si	si	CBZ 600
F, 44	5	-	-	22	39	Dyst. Asimm. Arousals	Mensili/Annuali	si	si	CBZ CR 800 PB 100
M, 19	19	-	-	19	0	Dyst. Asimm. Arousals	Plurinotturne	si	no	/
F, 27	25	Si (25)	-	27	2	Hyper	Plurinotturne	no	no	CBZ 200
F, 34	15	Si (15)	-	17	3	Hyper	Libera da crisi	si	no	CBZ 200

EFN= Epilessia Frontale Notturna; CF= Convulsioni Febrili; Hyper= Crisi ipermotorie; Dyst Asimm= Crisi distonico-asimmeriche; Arousals= Arousals Parossistici; CBZ= Carbamazepina; LTG= Lamotrigina; OXC= Oxcarbazepina; PHT= Fenitoina; CLB= Clobazam

**Tabella 2.** Risultati dello studio di  $^1\text{H}$ -MRS a livello del cingolo anteriore.

<b>Cingolo anteriore</b>					
	<b>Controlli (14)</b>		<b>Pazienti (19)</b>		<b><i>P</i>*</b>
	<b>Media</b>	<b>±DS</b>	<b>Media</b>	<b>±DS</b>	
NAA/Cr	1,38	0,16	1,23	0,11	0,021
Cho/Cr	0,30	0,06	0,28	0,04	n.s
mI/Cr	0,76	0,16	0,82	0,19	n.s
[NAA]	7,48	0,58	6,88	0,87	n.s
[Cr]	5,47	0,47	5,62	0,72	n.s
[Cho]	1,60	0,23	1,58	0,30	n.s
[mI]	3,58	1,75	4,59	1,06	n.s

NAA = N-acetil-aspartato; Cr = creatina-fosfocreatina; Cho = colina; mI = mio-inositolo; [] = concentrazioni assolute riportate in mM. DS = deviazione standard.

\* = T-test di Student (solo i valori di  $p < 0,05$ , dopo correzione di Bonferroni per comparazioni multiple, sono stati considerati significativi).

**Tabella 3.** Risultati dello studio di  $H^1$ -MRS a livello del talamo.

<b>Talamo</b>					
	<b>Controlli (14)</b>		<b>Pazienti (19)</b>		<b><i>P</i>*</b>
	<b>Media</b>	<b>±DS</b>	<b>Media</b>	<b>±DS</b>	
NAA/Cr	1,29	0,13	1,36	0,15	n.s
Cho/Cr	0,28	0,03	0,29	0,04	n.s
mI/Cr	0,66	0,14	0,71	0,10	n.s
[NAA]	7,07	0,84	7,15	0,99	n.s
[Cr]	5,47	0,43	5,29	0,72	n.s
[Cho]	1,50	0,17	1,52	0,20	n.s
[mI]	3,16	1,46	3,49	1,00	n.s

NAA = N-acetil-aspartato; Cr = creatina-fosfocreatina; Cho = colina; mI = mio-inositolo; [] = concentrazioni assolute riportate in mM. DS = deviazione standard.

\* = T-test di Student (solo i valori di  $p < 0,05$ , dopo correzione di Bonferroni per comparazioni multiple, sono stati considerati significativi).

# BIBLIOGRAFIA

- Aldrich MS. Sleep bruxism. *MedLink Neurology* 2004-2005; ICD code:306.8.
- Aldrich MS. Parasomnias. *MedLink Neurology* 2004-2005.
- Ambrosetto G. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* 1997; 38:739-740.
- American Academy of Sleep Medicine. *International Classification of Sleep Disorders, 2nd ed.: Diagnostic and Coding Manual*. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2005.
- Aridon P, Marini C, Di Resta C, Brilli E, De Fusco M, Politi F, et al. Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor alpha 2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *Am J Hum Genet* 2006;79:342–50.
- Bancaud J. Historical introduction to concepts and classification of frontal lobe seizures. *Epilepsia* 1988; 29(2):208.
- Bassetti C, Vella S, Donati F, Wielepp P, Weder B. SPECT during sleepwalking. *Lancet* 2000; 356:484–485.
- Berkovic SF, Serratosa JM, Phillips HA, Xiong L, Andermann E, Díaz-Otero F, Gómez-Garre P, Martín M, Fernández-Bullido Y, Andermann F, Lopes-Cendes I, Dubeau F, Desbiens R, Scheffer IE, Wallace RH, Mulley JC, Pandolfo M. Familial partial epilepsy with variable foci: clinical features and linkage to chromosome 22q12. *Epilepsia* 2004, 45:1054–1060.
- Bernasconi A, Bernasconi N, Natsume J, Antel SB, Andermann F, Arnold DL. Magnetic resonance spectroscopy and imaging of the thalamus in idiopathic generalized epilepsy. *Brain*. 2003;126(Pt 11):2447-54.
- Bertrand S, Weiland S, Berkovic SF, Steinlein OK, Bertrand D. Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptor mutants from humans suffering from autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Br J Pharmacol* 1998; 125:751-760.
- Bertrand D, Elmslie F, Hughes E, Trounce J, Sander T, Bertrand S, et al. The CHRNA2 mutation I312M is associated with epilepsy and distinct memory deficits. *Neurobiol Dis* 2005; 20:799–804.
- Biraben A, Taussig D, Thomas P, Even C, Vignal JP, Scarabin JM, Chauvel P. Fear as the main feature of epileptic seizures. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70:186–191.
- Bisulli F, Vignatelli L, Naldi I, Licchetta L, Provini F, Plazzi G, Di Vito L, Ferioli S, Montagna P, Tinuper P. Increased frequency of arousal parasomnias in families with nocturnal frontal lobe epilepsy: a common mechanism? *Epilepsia*. 2010; 51(9):1852-60.
- Bonavita S, Di Salle F, Tedeschi G. Proton MRS in neurological disorders. *Eur J Radiol*. 1999; 30(2):125-3.

- Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci*. 1993; 15(3-5):289-98.
- Broughton RJ. Sleep disorders: disorders of arousal? *Science* 1968; 159:1070-1078.
- Campos BA, Yasuda CL, Castellano G, Bilevicius E, Li LM, Cendes F. Proton MRS may predict AED response in patients with TLE. *Epilepsia*. 2010;51(5):783-8.
- Cendes F. Neuroimaging predictors of AED resistance in new-onset epilepsies. *Epilepsia*. 2011;52 Suppl 4:7-9.
- Cirignotta F, Zucconi M, Mondini S, et al. Enuresis, sleep walking and nightmares: an epidemiological survey in the Republic of San Marino. In: *Sleep/wake disorders: natural history, epidemiology and long term evolution*. Edited by Guilleminault C, Lugaresi E. New York, Raven Press 1983; 237-41.
- Combi R, Dalpra L, Tenchini ML, Ferrini-Strambi L. Autosomal dominant nocturnal lobe epilepsy. A critical overview. *Journal of Neurology* 2004; 251:923-934.
- Combi R, Dalpra L, Valcovati M, Oldani A, Tenchini ML e Ferrini-Stambi L. Evidence for a fourth locus for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Brain research bulletin* 2004; 63(5):353-359.
- De Fusco M, Becchetti A, Patrignani A, Annesi G, Gambardella A, Quattrone A, Ballabio A, Wanke E, Casari G. The nicotinic receptor beta 2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat. Genet* 2000; 26:275-278.
- Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain*.1995;118:279-306.
- Di Corcia G, Blasetti A, De Simone M, Verrotti A, Chirelli F. Recent advances on autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: “understanding the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR)”. *European Journal of paediatric neurology* 2005; 9:59-66.
- Doelken MT, Mennecke A, Stadlbauer A, Kecskeméti L, Kasper BS, Struffert T, Doerfler A, Stefan H, Hammen T. Multi-voxel magnetic resonance spectroscopy at 3 T in patients with idiopathic generalised epilepsy. *Seizure*. 2010;19(8):485-92.
- Fahoum F, Lopes R, Pittau F, Dubeau F, Gotman J. Widespread epileptic networks in focal epilepsies: EEG-fMRI study. *Epilepsia*. 2012; Sep;53(9):1618-27.
- Fedi M, Berkovic SF, Scheffer IE, O'Keefe G, Marini C, Mulligan R, Gong S, Tochon-Danguy H, Reutens DC. Reduced striatal D1 receptor binding in autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology*. 2008; 71(11):795-8
- Fojtiková D, Brázdil M, Horký J, Mikl M, Kuba R, Krupa P, Rektor I. Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with typical absence epilepsy. *Seizure* 2006; 15(7):533-40.
- Fojtiková D, Brázdil M, Skoch A, Jírů F, Horký J, Marecek R, Mikl M, Krupa P. Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Epileptic Disord*. 2007; 9 Suppl 1:S59-67.

Gambardella A, Annesi G, De Fusco M, Patrignani A, Aguglia U, Annesi F, Pasqua AA, Spadafora P, Olivieri RL, Valentino P, Zappia M, Ballabio A, Casari G, Quattrone A. A new locus for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy maps to chromosome 1. *Neurology* 2000; 55:1467-1471.

Giglio P, Undevia N, Spire JP. The primary parasomnias. A review for neurologists. *The neurologist* 2005; 11:90-97.

Gotman J, Grova C, Bagshaw A, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F. Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 (42): 15236-15240.

Gotman J. Epileptic networks studied with EEG-fMRI. *Epilepsia* 2008; 49 Suppl 3:42-51

Haki C, Gümüştaş OG, Bora I, Gümüştaş AU, Parlak M. Proton magnetic resonance spectroscopy study of bilateral thalamus in juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*. 2007;16(4):287-95.

Hammen T and Kuzniecky R. Magnetic resonance spectroscopy in epilepsy. *Handbook of Clinical Neurology* 2012; Vol 17 (3<sup>rd</sup> series) Chapter 25: 399-408

Hajek M, Dezortova M. Introduction to clinical in vivo MR spectroscopy. *Eur J Radiol*. 2008; 67(2):185-93.

Hayman M, Scheffer IE, Chinvarun Y, Berlangieri SU, Berkovic SF. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: demonstration of focal frontal onset and intrafamilial variation. *Neurology* 1997; 49:969-975.

Heron SE, Smith KR, Bahlo M, Nobili L, Kahana E, Licchetta L, Oliver KL, Mazarib A, Afawi Z, Korczyn A, Plazzi G, Petrou S, Berkovic SF, Scheffer IE, Dibbens LE. Missense mutations in KCNT1, coding for a sodium-gated potassium channel, cause a severe form of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature Genetics* 2012; 44:1188–1190.

Hirose S, Iwata H, Akiyoshi H, Kobayashi K, Ito M, Wada K, Kaneko S, Mitsudome A. A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 1999; 53:1749-1753.

Hoda JC, Gu W, Friedli M, Phillips HA, Bertrand S, Antonarakis SE, et al. Human nocturnal frontal lobe epilepsy: pharmacogenomic profiles of pathogenic nicotinic acetylcholine receptor beta-subunit mutations outside the ion channel pore. *Mol Pharmacol* 2008;74:379–91.

Hogg RC, Raggenbass M, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003; 147:1-46.

Hublin C, Kaprio J, Partinen M, Heikkila K, Koskenvuo M. Prevalence and genetics of sleepwalking: a population-based twin study. *Neurology* 1997; 48:177-81.

Isomura Y, Takada M. Neural mechanisms of versatile functions in primate anterior cingulate cortex. *Rev Neurosci*. 2004;15(4):279-91.

Kantarci K, Knopman DS, Dickson DW, Parisi JE, Whitwell JL, Weigand SD, Josephs KA, Boeve BF, Petersen RC, Jack CR Jr. Alzheimer disease: postmortem neuropathologic correlates of antemortem 1H MR spectroscopy metabolite measurements. *Radiology*. 2008 J; 248(1):210-20.

- Klein KM, O'Brien TJ, Praveen K, Heron SE, Mulley JC, Foote S, Berkovic SF, Scheffer IE. Familial focal epilepsy with variable foci mapped to chromosome 22q12: Expansion of the phenotypic spectrum. *Epilepsia*, 2012, 53(8):e151–e155
- Kuryatov A, Gerzanich V, Nelson M, Olale F, Lindstrom J. Mutations causing autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy alters Ca<sup>2+</sup> permeability, conductance, and gating of human  $\alpha$ 4- $\beta$ 2 nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 1997; 17:9035-9047.
- Laufs H, Hamandi K, Salek-Haddadi A, Kleinschmidt AK, Duncan JS, Lemieux L. Temporal lobe interictal epileptic discharges affect cerebral activity in "default mode" brain regions. *Hum Brain Mapp.* 2007; 28(10):1023-32.
- Lee BI, Lesser RP, Pippenger CE, Morris HH, Luders H, Dinner DS, Corrie WS, Murphy WF. Familial paroxysmal hypnogenic dystonia. *Neurology* 1985; 35:1357-1360.
- Leniger, Tobias, Kananura, Colette, Hufnagel, Andreas, Bertrand, Sonia, Bertrand, Daniel & Steinlein, Ortrud K. A New Chrna4 Mutation with Low Penetrance in Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44 (7):981-985.
- Lodi R, Parchi P, Tonon C, Manners D, Capellari S, Strammiello R, Rinaldi R, Testa C, Malucelli E, Mostacci B, Rizzo G, Pierangeli G, Cortelli P, Montagna P, Barbiroli B. Magnetic resonance diagnostic markers in clinically sporadic prion disease: a combined brain magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Brain.* 2009; 132:2669-79.
- Lugaresi E, Coccagna G, Mantovani M, Lebrun R. Some periodic phenomena arising during drowsiness and sleep in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32: 701–5.
- Lugaresi E, Cirignotta F. Hypnogenic paroxysmal dystonia: epileptic seizure or a new syndrome? *Sleep* 1981; 4(2):129-138.
- Lugaresi E, Cirignotta F, Montagna P. Nocturnal paroxysmal dystonia. *Journ of Neurol, Neurosurg, and Psychiatry* 1986; 49:375-380.
- Mahowald M, Schenck C. Status dissociatus-a perspective on states of being. *Sleep* 1991; 14:69-79.
- Mahowald MW, Bornemann MC, Schenck CH. Parasomnias. *Semin Neurol.* 2004; 24(3):283-92.
- Maldonado H, Delgado-Escueta AV, Swartz B, Walsh GO, Halgren E, Rand RW. Distinguishing frontal from temporal lobe complex partial seizures. *Epilepsia* 1988; 29(2):209.
- Marubio LM, del Mar Arroyo-Jimenez M, Cordero-Erausquin M, Lena C, Le Novere N, de Kerchove d'Exaerde A, Huchet M, Damaj MI, Changeux J-P. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* 1999; 398:805-810.
- Mazars G. Criteria for identifying cingulate epilepsies. *Epilepsia.* 1970;11(1):41-7.
- Meletti S, Cantalupo G, Volpi L, Rubboli G, Magaudda A, Tassinari CA. Rhythmic teeth grinding induced by temporal lobe seizures. *Neurology* 2004; 62:2306-2309.
- Montagna P, Sforza E, Tinuper P, Cirignotta F, Lugaresi E. Paroxysmal arousals during sleep. *Neurology* 1990; 40:1063-1066.

- Montagna P. Nocturnal paroxysmal dystonia and nocturnal wandering. [Review]. *Neurology* 1992; 42 (7 Suppl. 6):61-67.
- Montagna P, Lugaresi E, Plazzi G. Motor disorders in sleep. *Eur Neurol* 1997; 38:190-197.
- Nakken KO, Magnusson A, Steinlein OK. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: an electroclinical study of a norwegian family with ten affected members. *Epilepsia* 1999; 40(1):88-92.
- Nobili L, Francione S, Mai R, Tassi L, Cardinale F, Castana L, Sartori I, Lo Russo G, Cossu M. Nocturnal frontal lobe epilepsy: intracerebral recordings of paroxysmal motor attacks with increasing complexity. *Sleep* 2003; 26:883-886.
- Nobili L, Cossu M, Mai R, Tassi L, Cardinale F, Castana L, Citterio A, Sartori I, Lo Russo G, Francione S. Sleep-related hyperkinetic seizures of temporal lobe origin. *Neurology* 2004; 62:482-485.
- Ohayon MM, Guilleminault G, Priest RG. Night terrors, sleepwalking and confusional arousals in the general population: their frequency and relationship to other sleep and mental disorders. *J Clin Psychiatry* 1999; 60:268-276.
- Oldani A, Zucconi M, Ferrini-Strambi L, Bizzozzero D, Smirne S. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: electroclinical picture. *Epilepsia* 1996; 37(10):964-976.
- Oldani A, Zucconi M, Ferrini-Strambi L, Bizzozzero D, Smirne S. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* 1997; 38:738-740.
- Oldani A, Zucconi M, Asselta R, Modugno M, Bonati MT, Dalpra L, Malcovati M, Tenchini ML, Smirne S, Ferrini-Strambi L. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A video-polysomnographic and genetic appraisal of 40 patients and delineation of the epileptic syndrome. *Brain* 1998; 121:205-23.
- Ottman R. Analysis of genetically complex epilepsies. *Epilepsia* 2005;46(Suppl. 10):7-14.
- Paus T. Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:417-424.
- Peled R, Lavie P. Paroxysmal awakenings from sleep associated with excessive daytime somnolence. A form of nocturnal epilepsy. *Neurology* 1986; 36:95-98.
- Phillips HA, Scheffer IE, Berkovic SF, Hollway GE, Sutherland GR, Mulley JC. Localization of a gene for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy to chromosome 20q 13.2. *Nat Genet* 1995; 10:117-118.
- Phillips HA, Scheffer IE, Crossland KM, Bathia KP, Fish DR, Marsden CD, Howell SJL, Stephenson JBP, Tolmie J, Plazzi G, Eeg-Olofsson O, Singh R, Lopes-Cendes I, Andermann E, Andermann F, Berkovic SF, Mulley JC. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: genetic heterogeneity and evidence for a second locus at 15q24. *Am J Hum Genet* 1998; 63:1108-1116.
- Phillips HA, Marini C, Scheffer IE, Sutherland GR, Mulley JC, Berkovic SF. A de novo mutation in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2000; 48:264-267.



Phillips HA, Favre I, Kirkpatrick M, Zuberi MS, Goudie D, Heron SE, Scheffer IE, Sutherland GR, Bercovic SF, Bertrand D, Mulley JC. CHRN2 is the second Acetylcholine receptor subunit associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Am J Hum Genet* 2001; 68:225-231.

Picard F, Baulac S, Kahane P, Hirsch E, Sebastianelli R, Thomas P, Vigeveno F, Genton P, Guerrini R, Gericke CA, An I, Rudolf G, Herman A, Brice A, Marescaux C, LeGuern E. Dominant partial epilepsies. A+ clinical, electrophysiological and genetic study of 19 European families. *Brain* 2000; 123:1247-1262.

Picard F, Bruel D, Servent D, Saba W, Fruchart-Gaillard C, Schöllhorn-Peyronneau MA, Roumenov D, Brodtkorb E, Zuberi S, Gambardella A, Steinborn B, Hufnagel A, Valette H, Bottlaender M. Alteration of the in vivo nicotinic receptor density in ADNFLE patients: a PET study. *Brain*. 2006 Aug;129(Pt 8):2047-60.

Pittau F, Dubeau F, Gotman J. Contribution of EEG/fMRI to the definition of the epileptic focus. *Neurology*. 2012; 78(19):1479-87.

Plazzi G, Tinuper P, Montagna P, Provini F, Lugaresi E. Epileptic nocturnal wanderings. *Sleep* 1995; 18:749-756.

Plazzi G, Montagna P, Tinuper P, e Ambrosetto G. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* 1997; 38(6):738-740.

Plazzi G, Montagna P, Provini F, Tinuper P, Lugaresi E. Sudden arousals from slow-wave sleep and panic disorder. *Sleep* 1998; 21:548.

Provini F, Plazzi G, Tinuper P, Vandi S, Lugaresi E, Montagna P. Nocturnal frontal lobe epilepsy. A clinical and polygraphic overview of 100 consecutive cases. *Brain* 1999; 122:1017-1031.

Provini F, Plazzi G, Montagna P, Lugaresi E. The wide clinical spectrum of nocturnal frontal lobe epilepsy. *Sleep Med Rev* 2000; 4:375-386

Provini F. Sleep terror. *MedLink Neurology* 2004-2005; ICD code: 307.46-1.

Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(2):676-82.

Raichle ME. Two views of brain function. *Trends in Cognitive Science*.2010; 14(4): 180-190.

Rheims S, Ryvlin P, Scherer C, Minotti L, Hoffmann D, Guenot M, Mauguere F, Benabid AL, Kahane P. Analysis of clinical patterns and underlying epileptogenic zones of hypermotor seizures. *Epilepsia* 2008 ;49(12):2030–2040.

Richardson M. Current themes in neuroimaging of epilepsy: brain networks, dynamic phenomena, and clinical relevance. *Clin Neurophysiol*. 2010;121(8):1153-75.

Rodrigues-Pinguet N, Jia L, Li M, Figl A, Klaassen A, Truong A, Lester HA, Cohen BN. Five ADNFLE mutations reduce the Ca<sup>2+</sup> dependence of the mammalian  $\alpha 4\beta 2$  acetylcholine response. *J Physiol* 2003; 550(1):11–26.

Rozycka A, Skorupska E, Kostyrko A, Trzeciak, WH. Evidence for S284L mutation of the CHRNA4 in a white family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44(8):1113-7.

Saenz A, Galan J, Caloustian C, Lorenzo F, Marquez C, Rodriguez N, Jimenez MD, Poza JJ, Cobo AM, Grid D, Prudhomme JF, de Munain AL. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Spanish family with a Ser252Phe mutation in the CHRNA4 gene. *Arch Neurol* 1999; 56:1004-1009.

Seto H, Shimizu M, Watanabe N, Wu Y, Kageyama M, Kamisaki Y, Morijiri M, Tonoya Y, Kurachi M. Contralateral cerebellar activation in frontal lobe epilepsy detected by ictal Tc-99mHMPAO brain SPECT. *Clin Nucl Med* 1997; 22:194-195.

Savic I, Lekvall A, Greitz D, Helms G. MR spectroscopy shows reduced frontal lobe concentrations of N-acetyl aspartate in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2000 ;41(3):290-6.

Savic I, Osterman Y, Helms G. MRS shows syndrome differentiated metabolite changes in human-generalized epilepsies. *Neuroimage*. 2004;21(1):163-72.

Scheffer IE, Bhatia KP, Lopes-Cendes I, Fish DR, Marsden CD, Andermann F, Andermann E, Desbiens R, Cendes F, Manson JI, et al. Autosomal dominant frontal epilepsy misdiagnosed as sleep disorder. *Lancet* 1994; 343:515-517.

Scheffer IE, Bhatia KP, Lopes-Cendes I, Fish DR, Marsden CD, Andermann E, Andermann F, Desbiens R, Keene D, Cendes F, Manson JI, Constantinou JEC, A McIntosh, Berkovic SF. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A distinctive clinical disorder. *Brain* 1995; 118:61-73.

Scheffer IE. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. Special Report. *Epilepsia*, 2000; 41(8):1059-1060.

Schenck CH, Bundlie SR, Patterson AL, Mahowald MW. Rapid eye movement sleep behavior disorder. A treatable parasomnia affecting older adults. *Jama* 1987; 257(13):1786-9.

Schenck CH, Hurwitz TD, Mahowald MW. REM sleep behavior disorder: a report on a series of 96 consecutive cases and a review of the literature. *J sleep Res* 1993; 2:224-31.

Schenck CH, Mahowald MW. Long-term, nightly benzodiazepine treatment of injurious parasomnias and other disorders of disrupted nocturnal sleep in 170 adults. *Am J med* 1996; 100:333-337.

Schenck CH, Bundlie SR, Mahowald MW. Delayed emergence of a parkinsonian disorder in 38% of 29 older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *Neurology* 1996a; 46:388-93.

Schenck CH, Pareja JA, Patterson AL, Mahowald MW. Analysis of polysomnographic events surrounding 252 slow-wave sleep arousals in 38 adults with injurious sleepwalking and sleep terrors. *J Clin Neurophysiol* 1998; 15:159-166.

Sheldon SH, Garey A, Jacobsen J. REM sleep motor disorder in children. *Sleep Res* 1994;23:173.

Shih JJ, Weisend MP, Sanders JA, Lee RR Magnetoencephalographic and magnetic resonance spectroscopy evidence of regional functional abnormality in mesial temporal lobe epilepsy. *Brain Topogr.* 2011;23(4):368-74.

Schindler K, Gast H, Bassetti C, et al. Hyperperfusion of anterior cingulate gyrus in a case of paroxysmal nocturnal dystonia. *Neurology* 2001; 57:917–920.

Simister RJ, McLean MA, Barker GJ, Duncan JS. Proton MRS reveals frontal lobe metabolite abnormalities in idiopathic generalized epilepsy. *Neurology.* 2003; 14;61(7):897-902.

Simister RJ, McLean MA, Barker GJ, Duncan JS. Proton magnetic resonance spectroscopy of malformations of cortical development causing epilepsy. *Epilepsy Res.* 2007;74(2-3):107-15

Soon CS, Brass M, Heinze HJ, Haynes JD. Unconscious determinants of free decisions in the human brain. *Nat Neurosci.* 2008; 11(5):543-5.

Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, Wallace RH, Phillips HA, Sutherland GR, Scheffer IE, Berkovic SF. A missense mutation in neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 1995; 11:201-203.

Steinlein, OK, Magnusson A, Stoodt J, Bertrand S, Weiland S, Berkovic SF, Nakken KO, Propping P, Bertrand D. An insertion mutation of the CHRNA4 gene in a family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Hum Mol Genet* 1997; 6:943-947.

Steinlein OK, Stoodt J, Mulley J, Berkovic S, Scheffer IE, Brodtkorb E. Independent occurrence of the CHRNA4 Ser248Phe mutation in a Norwegian family with nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41:529-535.

Steinlein OK, Hoda JC, Bertrand S, Bertrand D. Mutations in familial nocturnal frontal lobe epilepsy might be associated with distinct neurological phenotypes. *Seizure* 2012; 21:118-23.

Steinlein OK. Nicotinic acetylcholine receptors and epilepsy. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2002 Aug; 1(4):443-8.

Talairach J, Bancaud J, Geier S, Bordas-Ferrer M, Bonis A, Szikla G, Rusu M. The cingulate gyrus and human behaviour. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1973;34(1):45-52

Tassinari CA, Terzano G, Capocchi G, Dalla Bernardina B, Vigeveno F, Daniele O, Valladier C, Dravet C, Roger J. Epileptic seizures during sleep in children. In *Epilepsy. The 8th International symposium*, ed. J.K. Penry, New York: Raven Press 1977; pp.345-354.

Tassinari CA, Gardella E, Meletti S, Rubboli G. “The neuroethological interpretation of motor behaviours in “nocturnal-hyperkinetic-frontal-seizures”: emergence of “innate” motor behaviours and role of central pattern generators. In *Frontal Lobe seizures and epilepsies in Children*. Edited by Beaumanoir A, Andermann F, Chauvel P, Mira L, Zifkin B. John Libbey 2003; pp.43-45.

Tassinari CA, Cantalupo G, Högl B, Cortelli P, Tassi L, Francione S, Nobili L, Meletti S, Rubboli G, Gardella E. Neuroethological approach to frontolimbic epileptic seizures and parasomnias: The same central pattern generators for the same behaviours. *Rev Neurol (Paris).* 2009; 165(10):762-8.

Tharp BR. Orbital frontal seizures. An unique electroencephalographic and clinical syndrome. *Epilepsia* 1972; 13:627-642.

Thorpy MJ. Sleep starts. *MedLink Neurology* 2004-2005; ICD code:307.47.

Thorpy MJ. Sleepwalking. *MedLink Neurology* 2004-2005; ICD code:307.47.

Thorpy MJ. Rhythmic movement disorder. *MedLink Neurology* 2004-2005. ICD code:307.3.

Thorpy MJ. Nocturnal leg cramps. *MedLink Neurology* 2004-2005. ICDcode:729.82.

Tinuper P, Cerullo A, Cirignotta F, Cortelli P, Lugaresi E, Montagna P. Nocturnal paroxysmal dystonia with short-lasting attacks: three cases with evidence for an epileptic frontal lobe origin of seizures. *Epilepsia* 1990; 31: 549-556.

Tinuper P, Lugaresi E. The concept of paroxysmal nocturnal dystonia. In: Bazil CW, Malow BA, Sammaritano MR (Eds). *Sleep and Epilepsy: the clinical spectrum*. Elsevier Science BV, 2002; pp. 277-282.

Tinuper P, Lugaresi E, Vigeveno F e Berkovic SF. Nocturnal frontal lobe epilepsy. In: Guerrini R, Aicardi J, Andermann F, Hallett M (Eds). *Epilepsy and movement disorders in children*. 2002; Cambridge University Press, Cambridge, pp. 97-110.

Tinuper P, Provini F, Bisulli F, Lugaresi E. Hyperkinetic manifestation in nocturnal frontal lobe epilepsy. Semeiological features and physiopathological hypothesis. *Neurological Sci* 2005; 26 (suppl 3): 210-214

Tinuper P, Provini F, Bisulli F, Vignatelli L, Plazzi G, Vetrugno R, Montagna P, Lugaresi E. Movement disorders in sleep: Guidelines for differentiating epileptic from non-epileptic motor phenomena arising from sleep. *Sleep Med Rev* 2007; 11, 255–267.

Tinuper P, Plazzi G, Provini F, Cerullo A e Lugaresi E. L'epilessia con crisi frontali notturne. In: Lugaresi E e Parmeggiani PL (a cura di). *Regolazione somatica e vegetativa nel sonno*, 1997; cap 8,pp133-147.

Vaughn VB. Parasomnias. *MedLink Neurology* 2004-2005.

Vercueil L, Hirsch E. Seizures and the basal ganglia: a review of the clinical data. *Epileptic Disord*. 2002 ;4 Suppl 3:S47-54. Review.

Vetrugno R, Mascalchi M, Vella A, Della Nave R, Provini F, Plazzi G, Volterrani D, Bertelli P, Vattimo A, Lugaresi E e Montagna P. Paroxysmal arousal in epilepsy associated with cingulate hyperfusion. *Neurology* 2005; 64:356-358.

Wada JA. Nocturnal recurrence of brief, intensely affective vocal and facial expression with powerful bimanual, bipedal, axial, and pelvic activity with rapid recovery as manifestations of mesial frontal lobe seizures. *Epilepsia* 1988; 29(2):209.

Waterman K, Purves SJ, Kosaka B, Strauss E, Wada JA. An epileptic syndrome caused by mesial frontal lobe seizure foci. *Neurology* 1987; 37:577-582.

Weiland S, Witzemann V, Villarrael A, Propping P, Steinlein O. An amino acid exchange in the second transmembrane segment of a neuronal nicotinic receptor causes partial epilepsy by altering its desensitisation kinetics. *FEBS letters* 1996; 398:91-96.

Wills L, Garcia J. Parasomnias: epidemiology and management. *CNS Drugs* 2002; 16(12):803-810.

Zucconi M, Ferini-Strambi L. NREM parasomnias: arousal disorders and differentiation from nocturnal frontal lobe epilepsy. *Clin Neurophysiol* 2000; 111(2):S129-S135.

Zucconi M, Oldani A, Ferini-Strambi L, Bizzozzero D, Smirne S. Nocturnal paroxysmal arousals with motor behaviors during sleep: frontal lobe epilepsy or parasomnia? *J Clin Neurophysiol* 1997; 14(6):513-522.