

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA



“Stato epilettico elettrico in sonno (ESES): influenza dello stadio del sonno sull'attivazione e distribuzione topografica delle anomalie epilettiformi. Revisione della letteratura e contributo casistico”

Relatore:

Chiar.^{mo} Prof. Lino Nobili

Correlatore:

Dott.^{ssa} Thea Giacomini

Candidato:

Maria Piai

Anno accademico 2019-2020

Ai miei affetti stabili.

SOMMARIO

1	INTRODUZIONE: IL SONNO E L'EPILESSIA	1
1.1	Epilessia.....	1
1.1.1	Cenni storici.....	2
1.1.2	Definizione e classificazione delle crisi epilettiche	3
1.1.3	Definizione e classificazione dell'epilessia	5
1.1.4	Meccanismi di epilettogenesi	9
1.2	Sonno	11
1.2.1	Meccanismi di regolazione del sonno.....	11
1.2.2	Architettura macro- e microscopica del sonno	13
1.2.3	Aspetti elettrofisiologici del sonno	17
1.3	Sonno ed Epilessia	22
1.3.1	Epilessia e sonno NREM	23
1.3.2	Epilessia e sonno REM.....	24
1.3.3	REM – fasico e REM – tonico.....	24
1.4	Focus sull'ESES – Stato Epilettico Elettrico in sonno.....	26
1.4.1	Aspetti epidemiologici.....	28
1.4.2	Parametri elettroencefalografici descrittivi dell'ESES	30
1.4.3	Caratteristiche elettro- e neurofisiologiche dell'ESES	32
1.4.4	Eziologia.....	34
1.4.5	Patogenesi: “la sindrome di Penelope”	37
1.4.6	Diagnosi.....	41
1.4.7	Trattamento.....	43
1.4.8	Prognosi	49
2	SCOPO DELLA TESI.....	50

3	MATERIALI E METODI.....	51
4	RISULTATI.....	57
4.1	Dati clinici dei pazienti.....	57
4.2	Canali analizzati e periodo di tempo indagato.....	58
4.3	Conta degli spikes e calcolo dell'ED index	59
5	DISCUSSIONE	69
6	CONCLUSIONI.....	71
7	BIBLIOGRAFIA.....	73

1 INTRODUZIONE: IL SONNO E L'EPILESSIA

Già nell'antichità, Aristotele ed altri filosofi iniziavano a comprendere lo stretto legame esistente tra l'epilessia ed il sonno, intuendo che entrambi costituiscono delle alterazioni dell'attività elettrica cerebrale e dello stato di coscienza; a conferma di ciò, è noto che molte forme di epilessia tendono a manifestarsi con crisi epilettiche prevalentemente notturne. Comprendere i meccanismi elettrofisiologici alla base del sonno ed il ruolo delle varie strutture che partecipano alla genesi del sonno stesso è un passo essenziale nello studio delle cause e del trattamento dell'epilessia; ci si potrebbe chiedere se le crisi epilettiche traggano origine a partire dalle oscillazioni del sonno, o se siano attivate da cause indipendenti e semplicemente appaiano in sovrapposizione all'attività del sonno: in merito, la letteratura suggerisce che sia proprio il sonno a promuovere le anomalie epilettiche (1).

In questo elaborato verranno brevemente trattati gli argomenti dell'epilessia, del sonno, e dei nessi esistenti fra i due e verrà descritto lo studio da noi condotto, inerente proprio al rapporto esistente fra alcuni stadi del sonno e l'attività epilettica elettrica.

1.1 EPILESSIA

L'epilessia rappresenta la più comune e diffusa patologia neurologica cronica, interessando più di 50 milioni di soggetti di tutte le età in tutto il mondo (dato fornito dalla *World Health Organization – WHO*, 2020); di questi, circa l'80% vive in Paesi a basso/medio reddito. Si stima che il 70% dei soggetti con epilessia potrebbe essere libero da crisi epilettiche, se la patologia fosse adeguatamente diagnosticata e trattata; tuttavia, circa $\frac{3}{4}$ delle persone affette, soprattutto nei Paesi sottosviluppati, non riceve un trattamento

idoneo, per mancanza di un'adeguata formazione del personale sanitario e di risorse e farmaci antiepilettici (2).

L'incidenza massima dell'epilessia si ha in età infantile, con circa 70:100.000 bambini di età inferiore ai 2 anni affetti (3); il 20 – 30% dei casi di epilessia sottende una condizione acquisita, come un ictus, un tumore o un trauma cranico, ma il restante 70 – 80% dei casi è probabilmente associato a fattori genetici (4).

1.1.1 *Cenni storici*

Le più importanti definizioni e classificazioni delle crisi epilettiche e dell'epilessia sono state redatte dall'*ILAE (International League Against Epilepsy)* nel 1981 (5), 1985 (6), 1989 (7) ed, infine, nel 2017 (8); quest'ultima versione, frutto di decenni di esperienza clinica accumulata, utilizza nuove terminologie (vedere **Figure 1.1**) e contiene aggiunte importanti revisioni, che hanno reso la classificazione stessa più intuitiva e versatile (9).

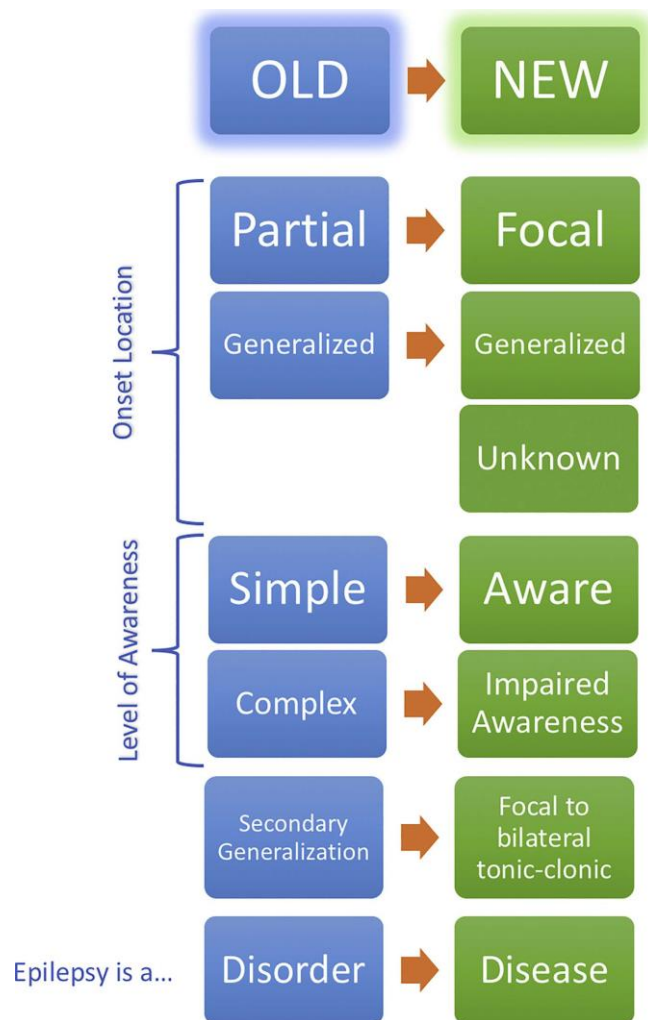


Figure 1.1 L'immagine mette in luce le principali differenze fra la terminologia fornita dall'ILAE nel 1981 e quella fornita nel 2017 (5)

La più recente definizione delle crisi epilettiche risale al 2005 (10), quella dell'epilessia al 2014 (11).

1.1.2 *Definizione e classificazione delle crisi epilettiche*

La definizione di crisi epilettica è stata fornita da Fisher *et al.* nel 2005 e resta ancora oggi invariata (10):

“An epileptic seizure is a transient occurrence of signs and/or symptoms due to abnormal excessive or synchronous neuronal activity in the brain.”¹

Le crisi epilettiche, sulla base del loro rapporto temporale con eventuali patologie predisponenti e/o scatenanti, possono essere distinte in:

- *Crisi epilettiche sintomatiche acute*, dette anche *provocate*: insorgono in stretto rapporto temporale con condizioni patologiche cerebrali strutturali o tossico/metaboliche.
- *Crisi epilettiche sintomatiche remote*, dette anche *non provocate*: si manifestano in assenza di fattori precipitanti e possono occorrere anche in presenza di un danno non recente del SNC (12).

Questa distinzione, come vedremo, è importante per la definizione dell'epilessia.

La ILAE nel 2017 ha fornito due tipi di classificazione delle crisi epilettiche, una “di base” ed una “estesa”:

¹ "La crisi epilettica è definita come occorrenza transitoria di segni e/o sintomi causati da un'attività neuronale eccessiva o sincrona nel cervello. "

- **Versione base:** le crisi epilettiche vengono classificate sulla base del loro esordio, che può essere focale, generalizzato o sconosciuto; esiste anche la categoria delle crisi epilettiche “non classificabili”, per carenza di informazioni o per impossibilità ad inquadrarle in una delle altre tre categorie. Tuttavia, la categoria “unclassified” tenderà probabilmente a scomparire, a favore di una maggior categorizzazione delle crisi come “unknown onset”. Il termine “focale” ha sostituito la vecchia definizione di crisi “parziale”. Le crisi focali sono ulteriormente classificate, sulla base dello stato di coscienza, in crisi a consapevolezza integra (“aware”) e crisi con consapevolezza compromessa (“impaired awareness”); questi concetti sostituiscono le precedenti definizioni di crisi semplice e complessa, rispettivamente. Il passo successivo, dopo aver esaminato lo stato di coscienza, consiste nel classificare le crisi focali sulla base dell’esordio, motorio o non-motorio. Nella classificazione delle crisi ad esordio generalizzato, la definizione dello stato di coscienza viene omesso, poiché lo stato di coscienza è quasi sempre compromesso; viene invece specificata la natura dell’onset, motorio o non-motorio: le crisi generalizzate motorie vengono ulteriormente definite come tonico – cloniche o “other motor”, mentre quelle non motorie vengono definite assenze.

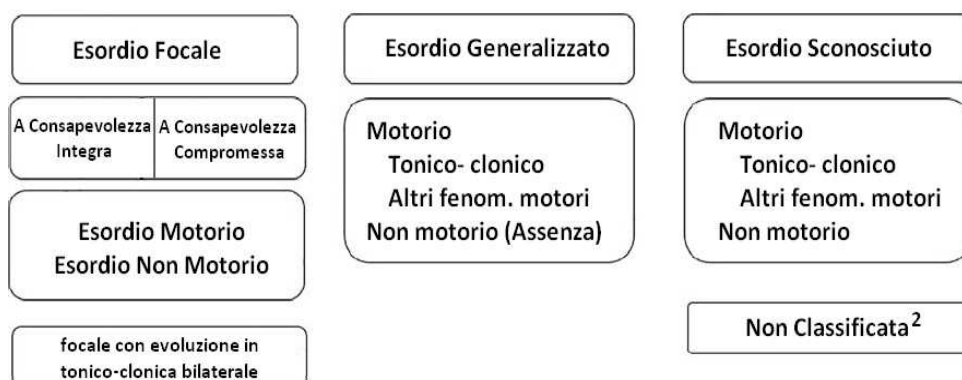


Figure 1.2 Classificazione “base ” delle crisi epilettiche ILAE 2017 (8).

- **Versione estesa:** tale classificazione estende le categorie dell'onset "motorio" e "non motorio" agli altri tipi di crisi (focali e "unknown onset"). La classificazione estesa è riportata in **Figure 1.3** (8).

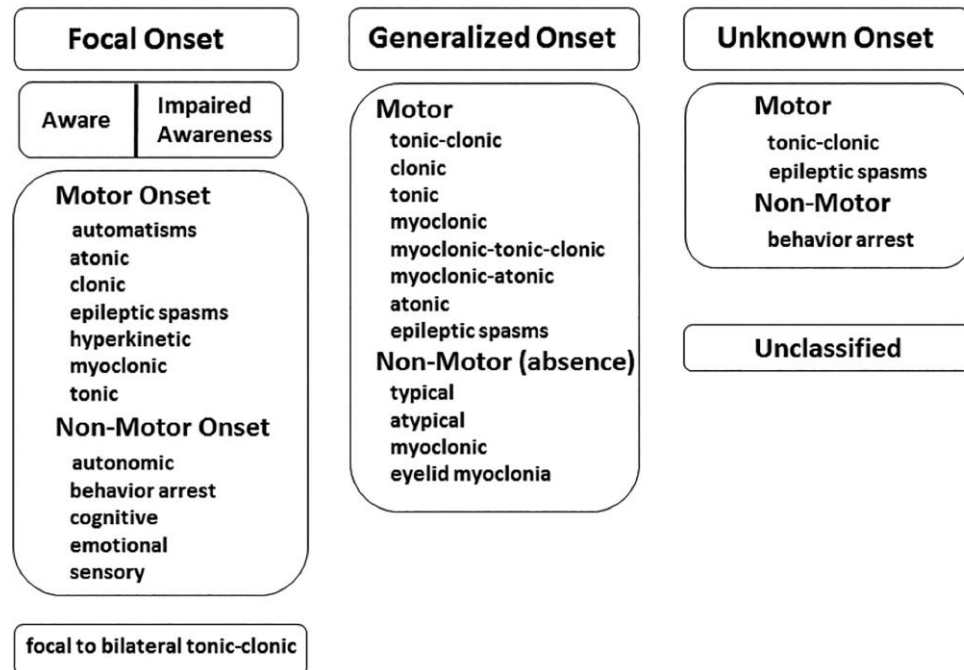


Figure 1.3 Classificazione "estesa" delle crisi epilettiche ILAE 2017 (8).

1.1.3 Definizione e classificazione dell'epilessia

L'epilessia è definita come un disturbo neurologico caratterizzato dall'occorrenza di crisi epilettiche e dalla patologica e duratura tendenza allo sviluppo di ulteriori crisi (11); più precisamente, l'epilessia è definita dal verificarsi di due o più crisi epilettiche *non provocate*, separate da un intervallo di tempo di almeno 24 ore o, altresì, da una singola crisi non provocata ed associata ad una probabilità di insorgenza di ulteriori crisi comparabile al rischio generale di recidiva dopo due crisi epilettiche non provocate (almeno il 60%, nei successivi 10 anni) (vedere **Table 1.1**). Il cut off è stato fissato al 60% in quanto questo è il limite inferiore dell'intervallo di probabilità che un soggetto che abbia già manifestato due crisi epilettiche ha di andare incontro ad una ulteriore crisi (13). Esempi di fattori che aumentano la probabilità di avere nuove manifestazioni epilettiche includono:

- attività epilettica dimostrabile all'EEG;
- potenziale anomalia epilettogena all'imaging cerebrale.

Crisi multiple insorgenti in un intervallo di 24 ore o un episodio di stato epilettico sono da considerarsi come evento singolo; inoltre, la diagnosi di epilessia non viene posta in soggetti che abbiano presentato un solo episodio critico non provocato e non soddisfacente i criteri di cui prima o crisi sintomatiche acute: le crisi febbrili e le convulsioni neonatali sono escluse dalla diagnosi di epilessia (11).

Operational (practical) clinical definition of epilepsy

Epilepsy is a disease of the brain defined by any of the following conditions:

1. At least two unprovoked (or reflex) seizures occurring >24 h apart.
2. One unprovoked (or reflex) seizure and a probability of further seizures similar to the general recurrence risk (at least 60%) after two unprovoked seizures, occurring over the next 10 years.
3. Diagnosis of an epilepsy syndrome.

Epilepsy is considered to be resolved for individuals who had an age-dependent epilepsy syndrome but are now past the applicable age or those who have remained seizure-free for the last 10 years, with no seizure medicines for the last 5 years.

Table 1.1 Definizione clinica dell'epilessia (11)
--

Nel 2014, l'epilessia è stata ridefinita come “patologia” e non più come “disturbo”: nonostante il termine “patologia” possa associarsi a maggior stigmatizzazione, tuttavia esso meglio sottolinea l'impatto dell'epilessia nella vita del paziente (11).

Anche per quanto riguarda l'epilessia, nel 2017 l'ILAE ha proposto un nuovo modello di classificazione, che segue lo schema riportato in **Figure 1.4**:

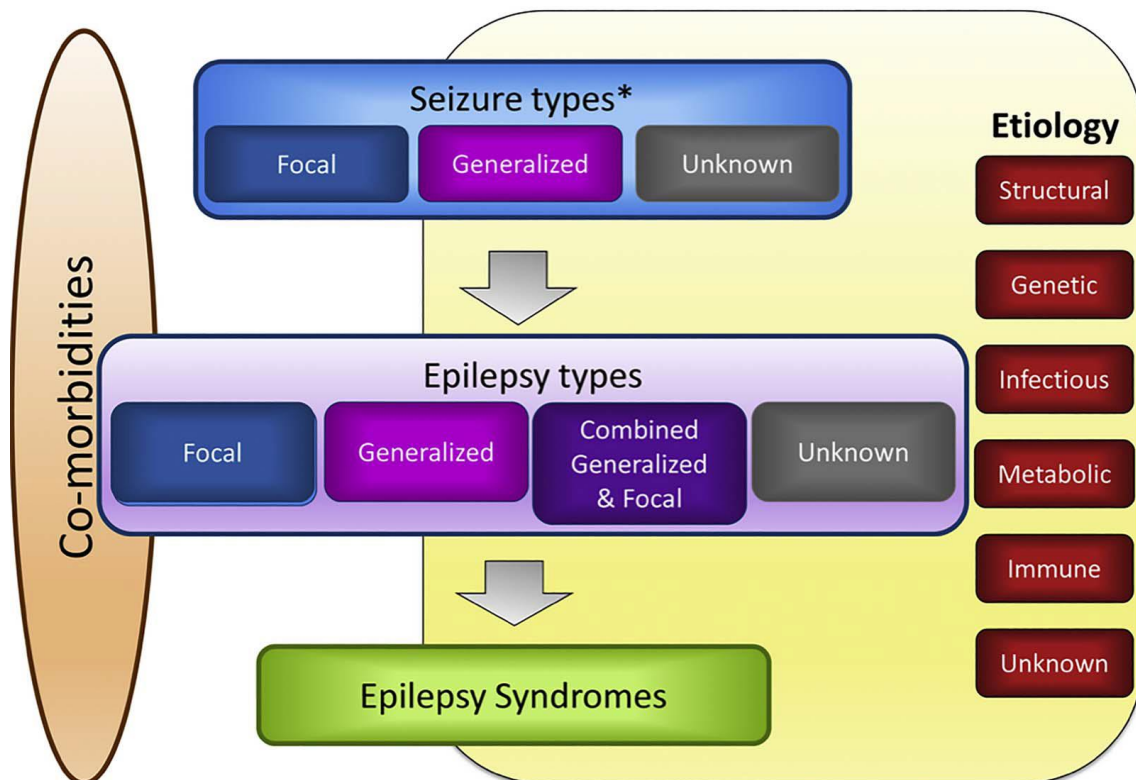


Figure 1.4 Classificazione dell'epilessia ILAE 2017 (14)

Tale schema di classificazione prevede innanzitutto la valutazione del tipo di crisi epilettiche, quindi, ove possibile, la definizione del tipo di epilessia, che può essere focale, generalizzato, combinato focale e generalizzato, non noto. Infine, il passo successivo consiste nell'identificare la sindrome epilettica, che è la risultante dell'associazione di più caratteristiche cliniche/elettroencefalografiche/radiologiche/etc. Anche i pazienti che soddisfano i criteri per l'epilessia, possono comunque presentare un tipo di epilessia non classificabile (14).

Valutare l'eventuale presenza di comorbidità e/o l'eziologia della patologia può essere di aiuto nel management clinico – terapeutico del paziente (14): per quanto riguarda l'eziologia, sono stati individuati molti fattori; generalmente, allo scopo di individuare il fattore eziologico, la prima indagine che viene condotta è la Risonanza Magnetica o altre indagini

di neuroimaging, alla ricerca di un'eziologia strutturale: questa potrà essere acquisita (ictus, trauma, infezione, ecc) o geneticamente determinata. Esistono associazioni riconosciute fra alcune forme di epilessia ed anomalie strutturali: la sclerosi ippocampale si associa frequentemente a crisi del lobo temporale mesiale; l'amartoma ipotalamico e la sindrome di Rasmussen si associano a crisi gelastiche (14).

Altre possibili eziologie dell'epilessia sono quella genetica, infettiva, metabolica ed immune; inoltre, in uno stesso paziente potrebbero concomitare più fattori eziologici di diversa natura. Per quanto riguarda la genetica, diversi geni, molti dei quali ancora oggi sconosciuti, possono essere implicati; gli studi di genetica molecolare hanno permesso di identificare moltissime mutazioni geniche causative di epilessia, tuttavia ad oggi la maggior parte di esse mostrano eterogeneità fenotipica e, analogamente, la maggior parte delle sindromi epilettiche mostra una grande eterogeneità genetica (14).

Le infezioni rappresentano sicuramente l'eziologia dell'epilessia più comune al mondo: esempi comuni sono la neurocisticercosi, la tubercolosi, l'HIV, la malaria cerebrale, la panencefalite sclerosante subacuta (PESS), la toxoplasmosi cerebrale e le infezioni congenite, come quelle da virus Zika e citomegalovirus; queste infezioni determinano spesso una concomitante anomalia strutturale. L'eziologia infettiva implica la necessità di effettuare un trattamento specifico (14).

Una lunga serie di disturbi metabolici si può associare all'epilessia: è il caso di patologie quali la porfiria, l'uremia, le aminoacidopatie, etc. In molti casi, i disturbi metabolici hanno un substrato genetico, quindi è probabile che la maggior parte delle epilessie metaboliche abbiano appunto una base genetica; tuttavia, alcuni disturbi metabolici possono essere acquisiti (14).

Per concludere, l'eziologia immunitaria prevede che alla base dell'epilessia vi siano meccanismi immunomediati che provochino una condizione di infiammazione del sistema nervoso centrale: ne sono un esempio le epilessie associate ad autoanticorpi anti – NMDA (N-metil-D-aspartato) (14).

Nonostante la presenza dei suddetti gruppi eziologici, spesso l'eziologia resta non nota (14).

1.1.4 *Meccanismi di epilettogenesi*

Con il termine “*epilettogenesi*” si fa riferimento ad una condizione in cui un'attivazione neuronale anomala produce un'attività epilettica episodica rilevabile elettroencefalograficamente, associata o meno a manifestazioni cliniche; tali scariche elettriche possono interessare piccole popolazioni neuronali, ed in tal caso si parlerà di attività epilettica focale, o tutto il cervello simultaneamente, come avviene nei casi di epilessia generalizzata (15). Le manifestazioni cliniche eventualmente associate dipendono dalla localizzazione dell'evento iniziale e dalla sua eventuale propagazione (16).

In situazioni fisiologiche, il nostro cervello è in una condizione di fine equilibrio fra l'attività eccitatoria (depolarizzazione) ed inibitoria (iperpolarizzazione); se per qualche motivo si verifica un aumento dell'attività eccitatoria o una diminuzione di quella inibitoria, il risultato può essere una scarica parossistica eccessiva in grado di generare una crisi epilettica. In altre parole, la crisi epilettica ha luogo quando la soglia di eccitabilità neuronale si riduce al punto che i meccanismi intrinseci di stabilizzazione della membrana cellulare vengono spiazzati (16). I tre elementi chiave in grado di contribuire all'instaurarsi della condizione di ipereccitabilità necessaria per l'epilettogenesi sono i seguenti:

- la capacità delle membrane dei neuroni di sviluppare scariche intrinseche;

- la riduzione dell'inibizione da parte dell'acido γ – amminobutirrico (GABA);
- il potenziamento dell'eccitazione sinaptica attraverso circuiti eccitatori riverberanti (15).

Sebbene questi fattori forniscano un substrato per l'epilettogenesi, è necessario che si instauri una condizione di sincronizzazione multicellulare per il palesarsi delle alterazioni EEG ed eventualmente cliniche (15).

Questi fenomeni di ipereccitabilità ed ipersincronismo neuronale coinvolgono le sinapsi, prevalentemente chimiche; in condizioni fisiologiche, infatti, l'eccitazione sinaptica riverberante viene mascherata da fenomeni di inibizione ricorrente; in situazioni patologiche, il blocco dei circuiti inibitori genera il cosiddetto *paroxysmal depolarization shift (PDS)*: si tratta di una brusca depolarizzazione di membrana ad alto voltaggio (circa 10 – 15 mV) e di maggior durata (circa 100–200 ms) rispetto ai normali potenziali eccitatori postsinaptici (*excitatory postsynaptic potentials – EPSPs*); questa lunga depolarizzazione ha l'effetto di generare una serie di potenziali d'azione a catena responsabili della genesi dell'attività epilettica (15).

1.2 SONNO

I neurobiologi spesso definiscono la veglia come uno spettro di stati comportamentali durante i quali gli animali manifestano un'attivazione motoria volontaria ed una reattività agli stimoli interni ed esterni; non appena si entra nel sonno NREM, la coscienza svanisce e, nelle fasi più profonde, si verifica un blocco degli stimoli, eccetto quelli più forti. Il sonno REM rappresenta invece la fase in cui si sperimentano i sogni vividi, arricchiti della componente emotiva, molto simili alla realtà ed accompagnati da movimenti oculari rapidi, atonia muscolare e fluttuazioni nella frequenza cardiaca e nella respirazione.

L'elettroencefalogramma (EEG) e l'elettromiogramma (EMG) sono eccellenti marcatori degli stati di sonno e veglia; durante la veglia, l'EEG mostra un'attività a bassa ampiezza ed elevata frequenza e l'EMG mostra un grado variabile di attività muscolare. Durante il sonno NREM, l'EEG è dominato invece da frequenze più lente e, infine, il sonno REM è caratterizzato da un'attività elettrica a bassa ampiezza ed elevata frequenza, molto simile a quella della veglia (17). Va tuttavia sottolineato che l'EEG non sempre riflette i cambiamenti di stato: ad esempio, l'attività delta EEG, che vedremo essere caratteristica del sonno NREM, potrebbe essere elevata durante la veglia in persone con squilibri metabolici come l'encefalopatia epatica.

1.2.1 *Meccanismi di regolazione del sonno*

Nel 1980, Borbély ha proposto e dimostrato l'esistenza di un fine sistema di regolazione del sonno, basato su due processi: il *processo S*, o processo omeostatico, ed il *processo C*, che rappresenta una sorta di un pacemaker circadiano (18).

Il processo S può essere considerato come il bisogno o la propensione al sonno ed incrementa progressivamente durante la veglia per poi declinare durante il sonno, come se

vi fosse una pressione al sonno che tende ad aumentare proporzionalmente alle ore trascorse in veglia (19). Un parametro elettrofisiologico utilizzato come indicatore dell'omeostasi del sonno è costituito dall'attività elettroencefalografica ad onde lente (*Slow Wave Activity – SWA*), equivalente all'attività delta tipica del NREM e comprendente componenti rientranti nello spettro di frequenze nel range 0.5 – 4.5 Hz (20): assumendo che il “bisogno” di sonno sia elevato durante la parte iniziale dell'episodio di sonno e gradualmente declini con il progredire di quest'ultimo, allora si può dire che anche la SWA sia elevata all'inizio, per poi decrescere con il proseguire del sonno. Quando il processo S si avvicina al suo limite inferiore innesca il risveglio, mentre quando è vicino al suo limite superiore attiva il sonno. Correlati omeostatici sono stati trovati anche nell'EEG della veglia, in particolare sottoforma di attività theta (5,5 – 9,0

Hz): la potenza della banda theta correla positivamente con la sonnolenza ed è aumentata in seguito a deprivazione parziale o totale di sonno (18).

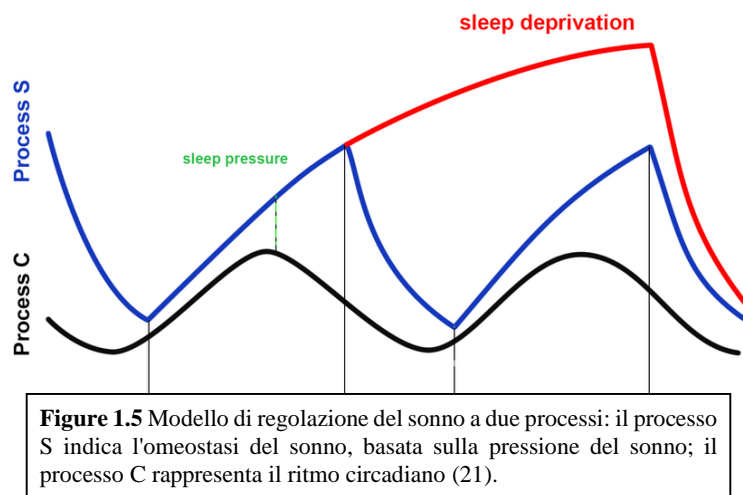
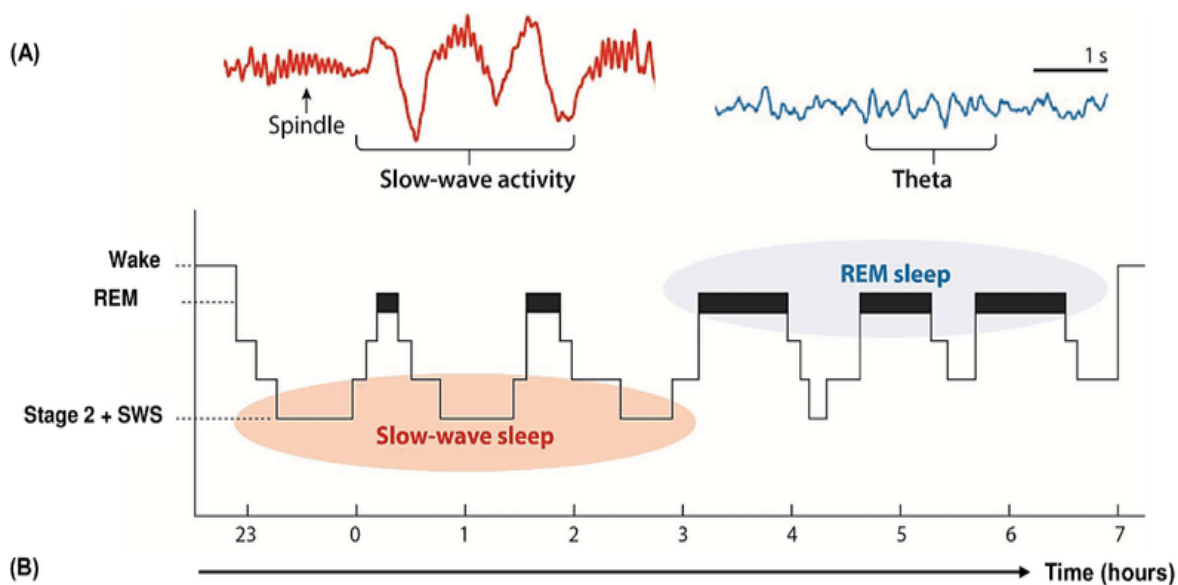


Figure 1.5 Modello di regolazione del sonno a due processi: il processo S indica l'omeostasi del sonno, basata sulla pressione del sonno; il processo C rappresenta il ritmo circadiano (21).

I markers del processo C sono invece costituiti dalla temperatura corporea centrale e dalle fluttuazioni della melatonina: un numero inferiore di studi si è concentrato sul ruolo di tale processo, tuttavia si può dire che si tratti di una sorta di orologio biologico che regola l'alternanza tra veglia e sonno interagendo strettamente con gli stimoli provenienti dall'ambiente; il più importante di questi è il ciclo luce – buio, che influenza il rilascio di melatonina. Inoltre, il processo C ha il ruolo importante di definire la soglia massima e minima entro cui oscilla il processo S (**Figure 1.5**) (18,21).

1.2.2 Architettura macro- e microscopica del sonno



	Wake	NREM sleep	REM sleep
Psychological features	Varying amount of alertness and attentiveness	Unconscious, or bland thoughts	Vivid, story-like dreams
Physiological features	Sympathetic tone variable	Sympathetic tone low; roving eye movements in light NREM sleep	Sympathetic tone variable; bursts of fast saccadic eye movements
EEG pattern (5 sec)			
Developmental changes	Short wake bouts in infants and young children	Deep NREM sleep abundant in children, but gradually decreases across adulthood	Abundant in infants, steady levels across adulthood; NREM – REM cycle short in infants

Figure 1.6 Schematizzazione dell'andamento tipico degli stati di sonno e veglia in un soggetto giovane adulto e sano: il soggetto passa rapidamente dalla veglia al sonno NREM, che si fa via via più profondo attraversando gli stadi N1 – 3; i cicli NREM - REM si verificano all'incirca ogni 90 minuti. La tabella mette in luce le principali caratteristiche di veglia, sonno NREM e sonno REM (16).

Secondo le linee guida della *American Academy of Sleep Medicine (AASM)* del 2007, fisiologicamente il sonno presenta una suddivisione in fasi del sonno che può essere così schematizzata (22):

- Sonno NREM: è il cosiddetto sonno ad onde lente e comprende tre stadi successivi (N1 – 3), caratterizzati da progressivo rallentamento e sincronizzazione dell'attività EEG

(N1), comparsa di fusi del sonno (*spindles*) e *complessi K* (N2), e progressivo predominio di attività delta di crescente ampiezza e durata (N3).

- Sonno REM: si manifesta con la rapida comparsa di un'attività EEG desincronizzata alfa/theta di basso voltaggio, simile alla veglia, associata ad atonia muscolare e, talvolta, a movimenti oculari rapidi (*REM – Rapid Eyes Movements*).

Durante la notte si susseguono 4 – 6 cicli di sonno, ciascuno della durata di circa 90 minuti e caratterizzato dal passaggio attraverso i vari stadi del sonno. Il sonno NREM costituisce circa l'80% del totale del sonno, contro il 20% del sonno REM. Durante la prima parte della notte si ha una predominanza di sonno NREM, mentre il sonno REM prevale nell'ultimo terzo della notte (23,24).

Mentre l'eterogeneità degli stadi NREM è ben consolidata, il sonno REM ad oggi viene ancora uno stadio omogeneo; tuttavia, studi recenti sembrano contestare tale visione, sottolineando la presenza nel sonno REM dell'alternanza di due “microstati”, chiamati REM – fasico e REM – tonico: il REM – fasico è caratterizzato dalla presenza di movimenti oculari rapidi, mentre il REM tonico è caratterizzato dall'assenza di tali movimenti (vedere **Figure 1.7**). Come sottolineato da Simor et al. (2020), vi sono sempre più evidenze secondo cui i due periodi, fasico e tonico, rappresentano stati cerebrali nettamente diversi fra loro in termini di attività corticale spontanea ed evocata, elaborazione delle informazioni ed esperienze mentali e che i microstati REM svolgono un ruolo cruciale in alcuni disturbi legati al sonno (25).

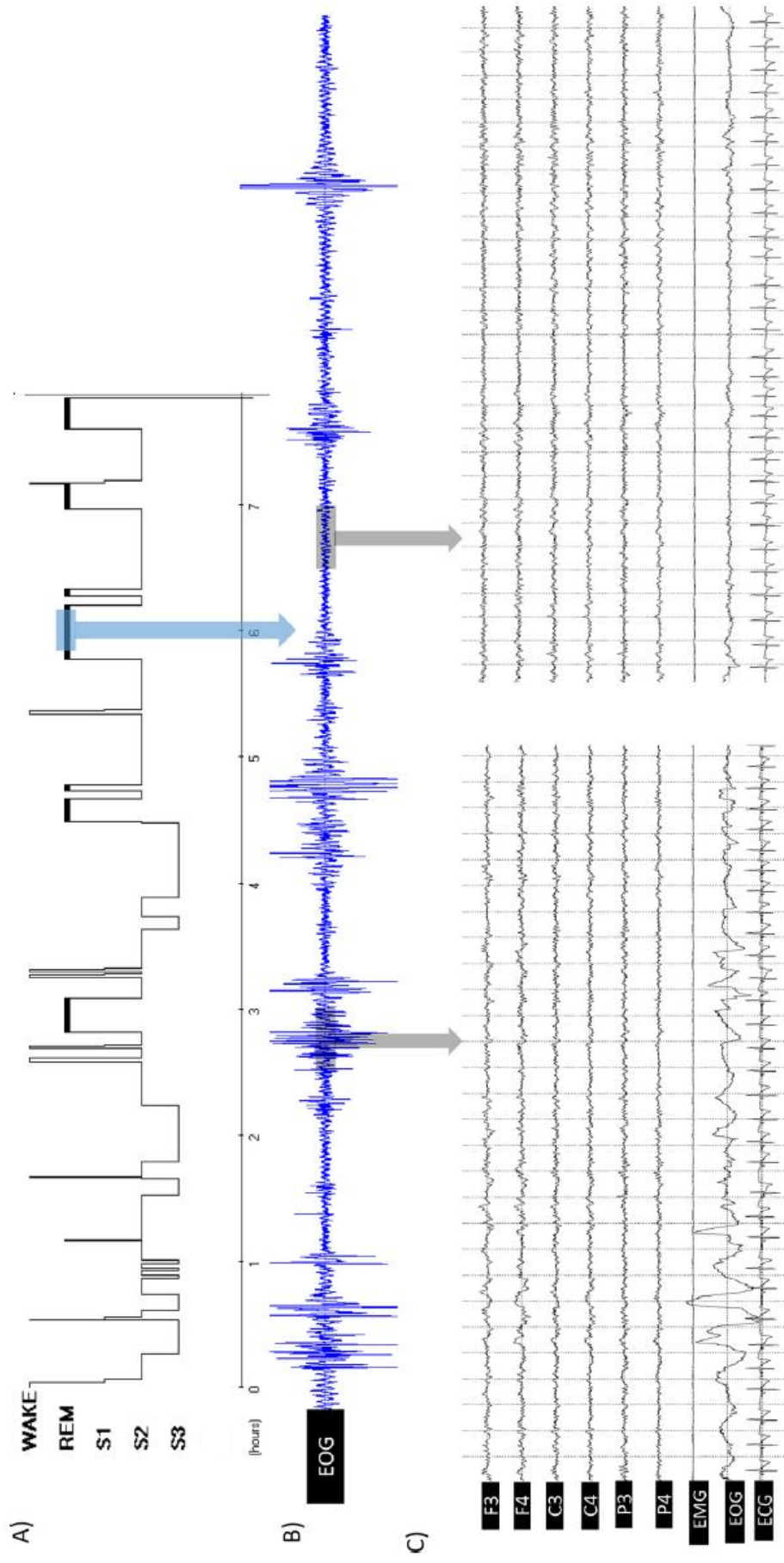


Figure 1.7 La figura mostra la suddivisione del sonno REM nei due microstati fasico e tonico.

A) Ipnoگرامma di un soggetto sano: i cicli di sonno REM ricompaiono 4/5 volte a notte e durano circa 20 minuti.

B) Attività EOG di un segmento di 15 minuti di sonno REM: si alternano periodi con movimenti oculari rapidi (REM fasico), rappresentati da bursts di aumentata ampiezza EOG, e periodi senza movimenti oculari rapidi (REM tonico), rappresentati da ampiezze EOG ridotte.

C) Periodo di 30 secondi di sonno REM fasico (a sinistra) e tonico (a destra): sono rappresentate le derivazioni EEG frontali (F3, F4), centrali (C3, C4) e parietali (P3, P4) e l'attività elettromiografica (EMG), elettrooculografica (EOG) ed elettrocardiografica (ECG) (37).

Da un punto di vista della sua struttura microscopica, o elettrica, il sonno NREM è caratterizzato da sincronizzazione elettrica via via crescente con l'aumentare della profondità del sonno, mentre il REM è caratterizzato da desincronizzazione EEG analoga a quella della veglia; in particolare, il sonno NREM è caratterizzato dall'alternanza di attività lente delta e sigma; l'attività delta (*Delta Activity – DA*) ha una frequenza di 0.5 – 4.0 Hz e contiene elementi quali onde delta, onde Vertex, complessi K ed oscillazioni inferiori ad 1 Hz; la DA può essere considerata il principale indicatore della profondità del sonno (26). L'attività sigma (*Sigma Activity – SA*) corrisponde invece ai cosiddetti “fusi del sonno”, brevi sequenze di onde fusiformi di 12 – 16 Hz, maggiormente espresse nelle regioni frontocentrali, osservabili soprattutto in stadio N2 (27).

. Durante il sonno NREM, l'andamento di DA e SA è tipico, con un picco precoce di SA seguito dalla sua progressiva diminuzione, che si accompagna all'aumento graduale di DA fino al suo massimo (vedere **Figure 1.8**) (26,29).

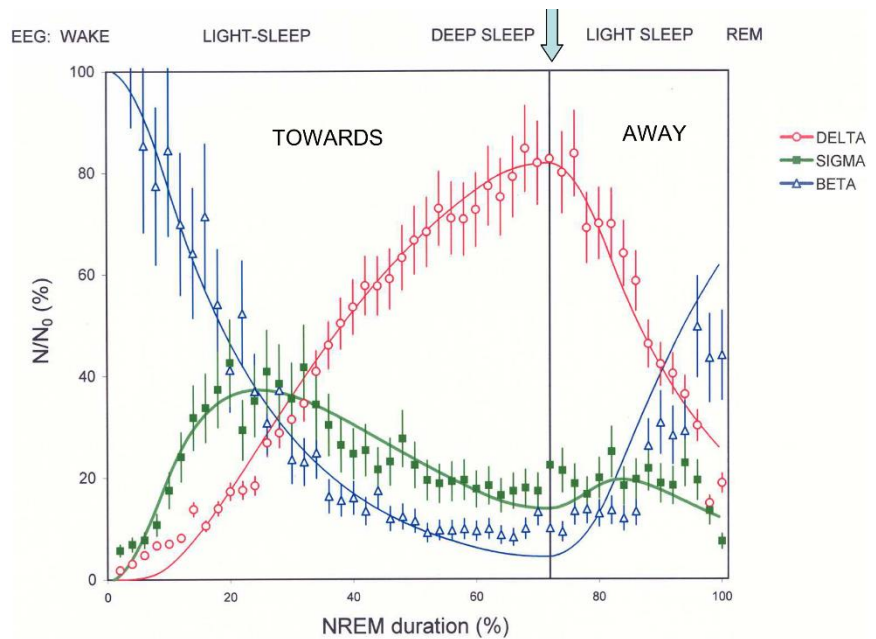


Figure 1.8 L'immagine mette in evidenza la relazione tra l'attività beta (tipica della veglia), delta e sigma: la curva di attività beta scende esponenzialmente nel passare dalla veglia al sonno, mentre la curva delta aumenta con andamento sigmoide; l'attività sigma raggiunge il suo massimo mentre quella delta è ancora in aumento, mentre l'attività delta raggiunge il picco quando l'attività sigma tende al minimo. Il numero di neuroni (N) in range beta, sigma e delta, è espresso come percentuale del numero di neuroni in range beta (N0) all'inizio dell'episodio NREM. (28)

Il sonno REM è invece caratterizzato da un'attività elettrica di bassa ampiezza e frequenza variabile, nel range di frequenza delle onde alfa e beta: nel REM, l'EEG è quindi

molto simile a quella dello stadio N1, sebbene siano molto meno comuni le onde vertex; compaiono inoltre le onde PGO (ponto-genicolo-occipitali) e l'attività dell'ippocampo si fa sincronizzata con la comparsa di oscillazioni theta alla frequenza di 6 – 12 Hz (24).

1.2.3 Aspetti elettrofisiologici del sonno

La generazione dei ritmi delta e sigma tipici del NREM, vede la partecipazione del cosiddetto *sistema* o *circuito corticotalamico*, formato da tre strutture reciprocamente connesse fra loro:

- la corteccia;
- il *nucleo reticolare talamico* con i suoi neuroni reticolari GABAergici;
- il *nucleo dorsale del talamo* con i relativi neuroni talamocorticali glutammatergici.

Come riportato in **Figure 1.9**, le connessioni fra le suddette strutture possono essere così schematizzate: i neuroni corticali inviano proiezioni eccitatorie glutammatergiche ai due nuclei del talamo; al contempo, i neuroni del nucleo reticolare inviano proiezioni inibitorie GABAergiche al nucleo dorsale del talamo ed ai neuroni adiacenti del nucleo reticolare stesso. A loro

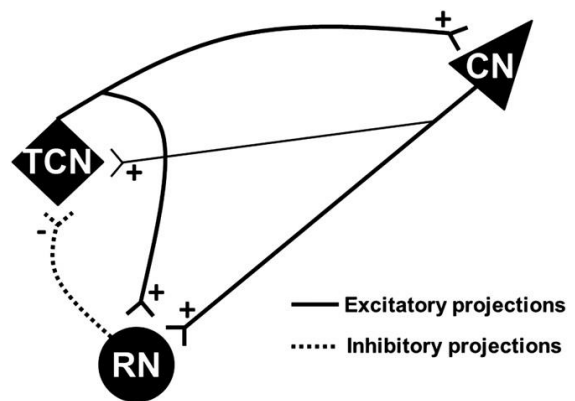


Figure 1.9 Rappresentazione schematica dell'anatomia e delle interazioni funzionali tra le strutture del circuito corticotalamico (vedere testo)
 CN: neuroni corticali; RN: neuroni reticolari; TCN: neuroni talamocorticali. (22)

volta, i neuroni talamocorticali del nucleo dorsale proiettano alla corteccia ed al nucleo reticolare attraverso assoni eccitatori glutammatergici (30,31). Il circuito corticotalamico è quindi costituito da diverse strutture, le cui reciproche interazioni portano ad un complesso bilanciamento degli stimoli in uscita dal sistema stesso: per esempio, la proiezione

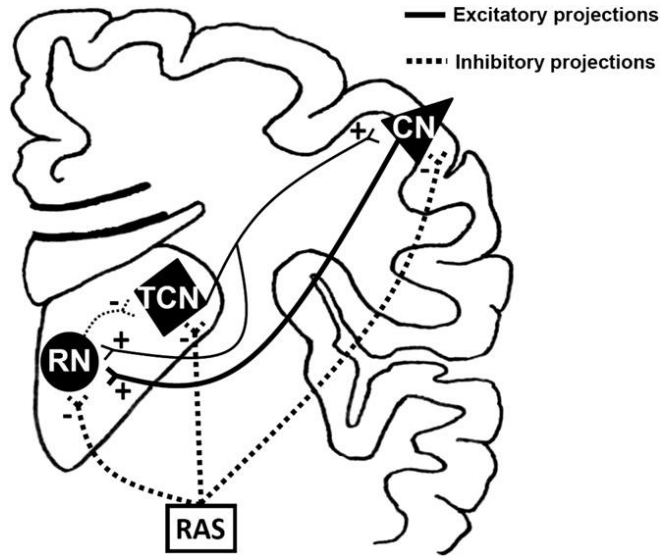
corticotalamica eccita direttamente i neuroni talamocorticali, ma allo stesso tempo li inibisce attraverso l'attivazione delle proiezioni GABAergiche provenienti dal nucleo reticolare.

L'attività di questi circuiti è modulata dal cosiddetto *reticular activating system* – RAS (sistema attivatore ascendente) (30,31): si tratta dell'insieme di una serie di proiezioni ascendenti attivatorie colinergiche, glutammatergiche e monoaminergiche che traggono origine da strutture localizzate a livello del tronco encefalico, in particolare da:

- due gruppi di nuclei colinergici, il *nucleo tegmentale peduncolo - pontino* ed il *nucleo tegmentale laterodorsale*;
- Il *locus coeruleus* (nucleo noradrenergico) ed il *nucleo dorsale del rafe* (serotoninergico) (1).

In particolare, il locus coeruleus ed il nucleo dorsale del rafe hanno un'elevata attività di scarica durante il sonno NREM e determinano una modulazione aminergica dei nuclei talamici; questo fa sì che a livello del nucleo reticolare talamico si formino delle oscillazioni del potenziale di membrana che, tramite le vie talamocorticali, si trasmettono alla corteccia dove si traducono nella formazione dei fusi; a mano a mano che il sonno si fa più profondo, la progressiva iperpolarizzazione delle cellule talamocorticali fa sì che i fusi siano progressivamente rimpiazzati da oscillazioni a bassa frequenza nel range del ritmo delta (1,30).

Durante il sonno NREM, quindi, l'attività modulatoria del sistema RAS facilita delle proprietà oscillatorie del circuito corticotalamico (vedere **Figure 1.10**) (30).



Per quanto riguarda invece il sonno REM, il core centrale del circuito generatore è localizzato all'interno del tronco encefalico ed è rappresentato dal *nucleo subcoeruleus (SubC)*, situato ventralmente al locus coeruleus

Figure 1.10 Rappresentazione schematica dell'anatomia e delle interazioni funzionali tra il generatore dei fusi del sonno, la corteccia ed il sistema reticolare attivatore ascendente (RAS) (vedere testo). CN: neuroni corticali; RAS: sistema reticolare attivatore ascendente; RN: neuroni reticolari; Tcn: neuroni talamocorticali. (22)

e medialmente al nucleo motore trigeminale; i neuroni di tale nucleo sono molto attivi durante il sonno REM (sono infatti definiti *neuroni REM – on*); l'attivazione dei neuroni glutamatergici SubC è mediata da due fattori: in primo luogo, dalla stimolazione colinergica diretta da parte dei nuclei peduncolo - pontino e tegmentale laterale, facenti parte del sistema RAS (nuclei REM – on); in secondo luogo, dall'inibizione delle afferenze GABAergiche provenienti dalle aree REM - off: in particolare, il *nucleo reticolare dorsale paragigantocellulare (DPGi)* ed il *grigio periacqueduttale ventrolaterale (vlPAG)* producono un'inibizione delle aree REM – off rappresentate dal locus coeruleus, il rafe dorsale ed il nucleo reticolare del talamo (32–36).

Si ritiene quindi che le proiezioni colinergiche attivanti il nucleo SubC abbiano un ruolo cruciale nel controllo del sonno REM e costituiscano i cosiddetti neuroni REM – on; inoltre, è stato recentemente dimostrato che l'acetilcolina è responsabile anche dell'attivazione delle

proiezioni spinali discendenti a partenza dal nucleo SubC stesso e responsabili dell'atonia muscolare (35,36).

Se, quindi, la neurotrasmissione colinergica contribuisce alla generazione del sonno REM, si potrebbe dedurre che il blocco dei recettori Ach del nucleo SubC sopprima il sonno REM; tuttavia, i risultati di un recente studio smentiscono tale ipotesi, affermando che i neuroni SubC non sono necessari per avviare la transizione al sonno REM, ma hanno la funzione di facilitare e

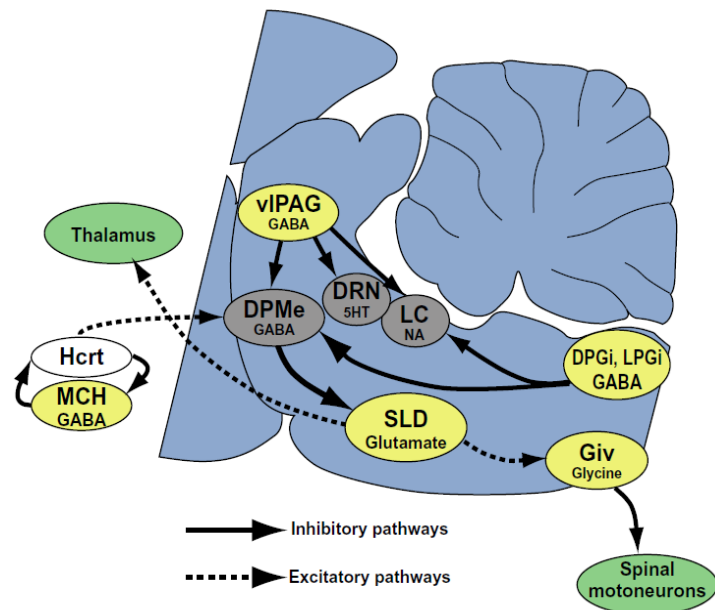


Figure 1.11 Modello descrittivo dei networks responsabili dell'insorgenza e del mantenimento del sonno REM: i neuroni glutammatergici "REM - on" del nucleo SubC facilitano l'ingresso in sonno REM e, attraverso proiezioni discendenti ai motoneuroni spinali, inducono l'atonia muscolare; l'attivazione dei neuroni SubC è dovuta al venir meno delle inibizioni toniche derivanti dai neuroni GABAergici "REM - off" delle strutture mesencefaliche (nucleo reticolare (DPMc)) e dai neuroni noradrenergici (Locus Coeruleus - LC) e serotoninergici (nucleo dorsale del rafe - DRN). La cessazione dell'attività dei neuroni REM - off sarebbe dovuta a un'inibizione tonica messa in atto dai neuroni GABAergici REM - on nel DPGi e VIPAG.
Giallo: strutture REM - on; Grigio: strutture REM - off; Verde: strutture target.

potenziare tale transizione, una volta che questa è iniziata (33,36).

Ciò è reso evidente dall'aumento del tempo di transizione dal sonno NREM al sonno REM, quando i recettori dell'Ach sono bloccati; inoltre, gli studi suggeriscono che l'attivazione dei neuroni colinergici sia gestita e regolata dal nucleo SubC stesso, a conferma del fatto che vi sia una interazione mutualmente eccitatoria tra i circuiti colinergici e glutammatergici (36,37).

I concetti enunciati riguardanti i networks alla base del sonno REM sono schematizzati in figura **Figure 1.11**; inoltre, la **Figure 1.12** riassume i principali nuclei REM - on e REM - off descritti finora.

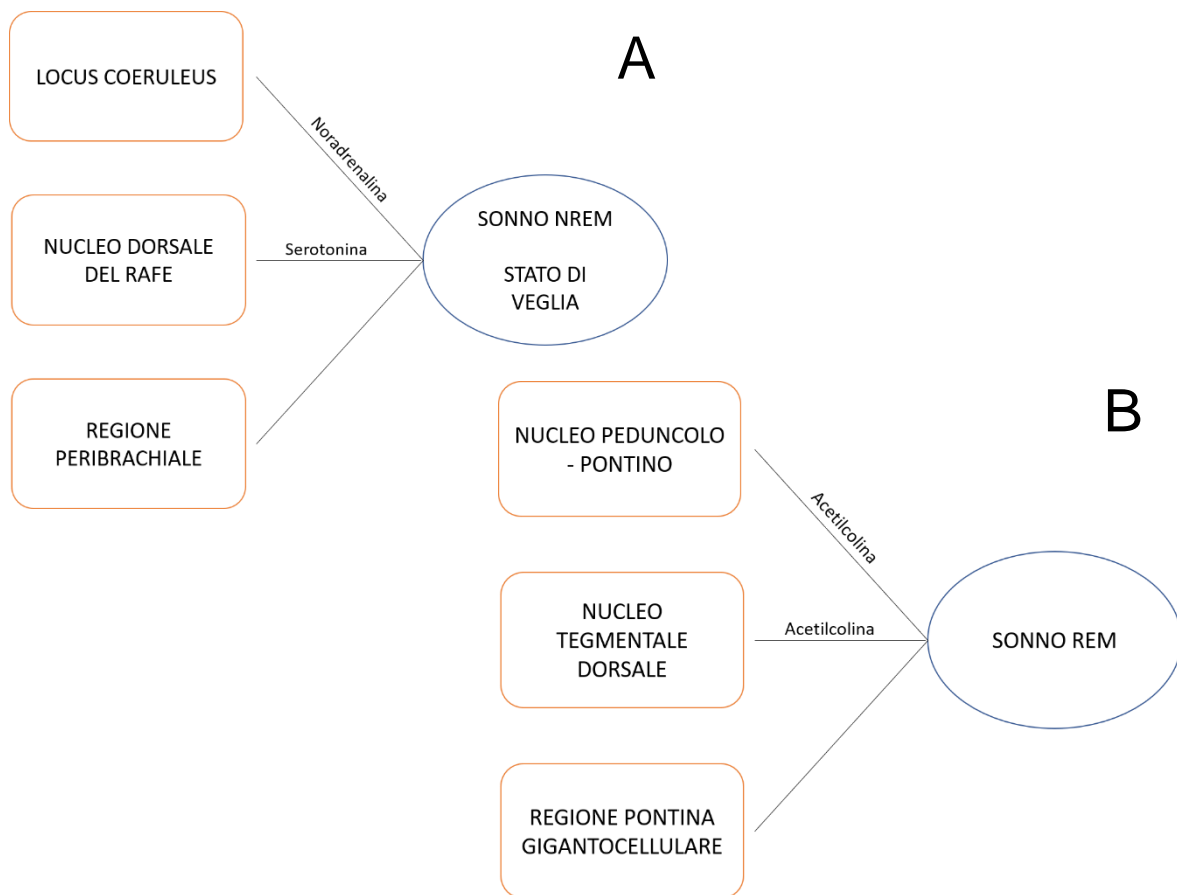


Figure 1.12 Principali nuclei REM - off (A) e REM - on (B)

1.3 SONNO ED EPILESSIA

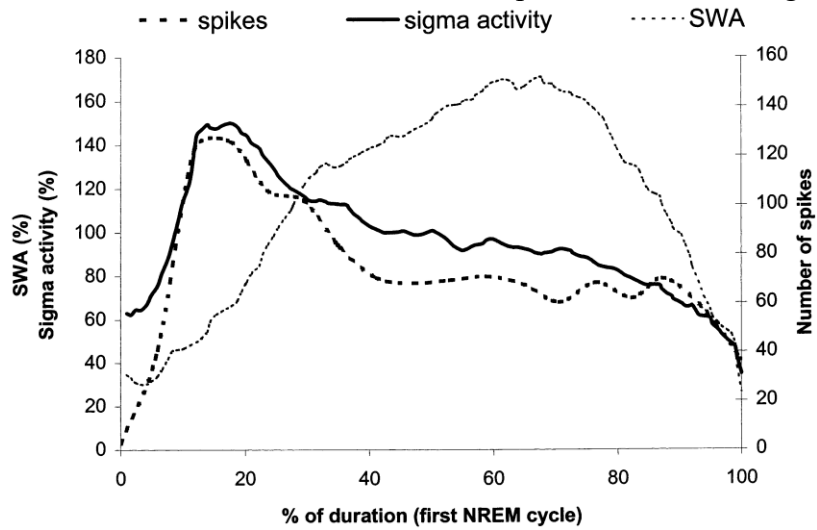
I meccanismi neurofisiologici che regolano il sonno e l'epilessia sono strettamente correlati fra loro ed interagiscono a molti livelli; a riprova di ciò, lo stadio del sonno influenza il rilevamento delle scariche epilettiche ed il verificarsi delle crisi epilettiche. Inoltre, qualsiasi alterazione del sonno può peggiorare le crisi epilettiche e, infine, i farmaci antiepilettici possono influenzare positivamente o negativamente il sonno (38).

È risaputo che la registrazione EEG durante il sonno aumenta la probabilità di rilevare un'eventuale attività epilettiforme rispetto alle registrazioni EEG routinarie; inoltre, la privazione del sonno ha dimostrato di rivestire il ruolo di trigger delle scariche epilettiche, in soggetti predisposti (38). I due stadi principali del sonno, NREM e REM, hanno diverse componenti fisiologiche ed effetti contrastanti sulle scariche epilettogene ictali ed interictali; in particolare, il sonno NREM favorisce la diffusione e propagazione degli spikes, mentre il sonno REM, con il suo pattern EEG desincronizzato e l'atonia muscolare, sembra avere un effetto contrastante l'attività elettrica epilettica ed il suo correlato clinico motorio. Questi effetti opposti del sonno NREM e REM sono confermati dall'evidenza clinica che le crisi epilettiche – soprattutto quelle generalizzate tonico-cloniche e miocloniche – si verificano soprattutto durante il sonno NREM; inoltre, gli spikes interictali dimostrabili all'EEG mostrano, durante il sonno REM, una minor tendenza alla propagazione ed all'evoluzione a crisi epilettiche clinicamente evidenti (1).

Nobili *et al.* hanno effettuato uno studio su un pool di pazienti affetti da ESES (Electrical Status Epilepticus in Sleep) ed hanno valutato la correlazione esistente fra le punte – onde epilettiche continue, tipiche di tali soggetti, e l'attività delta e sigma tipiche del sonno NREM:

tali Autori hanno evidenziato una stretta correlazione fra l'attività epilettica e l'attività sigma,

le quali correlano
 inversamente con
 l'andamento
 dell'attività delta
 (vedere **Figure 1.13**)
 (26).



Le osservazioni
 cliniche ed
 elettrofisiologiche

Figure 1.13 Modello di distribuzione temporale dell'attività delta (DA), sigma (SA) e degli spikes epilettici durante il primo ciclo di sonno NREM: la distribuzione degli spikes è tipica e correla fortemente con la SA, avendo distribuzione temporale inversa alla DA.

hanno portato alla conclusione che le componenti degli stati di sonno e veglia più influenti nell'epilessia sono il grado di sincronizzazione delle scariche cellulari e le alterazioni del tono dei muscoli posturali (39); sulla base di questi concetti, in questo capitolo affronteremo la relazione fra l'epilessia ed i vari stadi del sonno, andando ad approfondire quali caratteristiche del sonno NREM favoriscono l'attivazione e diffusione degli spikes e quali caratteristiche del sonno REM, al contrario, sopprimono gli spikes stessi.

1.3.1 Epilessia e sonno NREM

Il sonno NREM si caratterizza per la presenza di un'attività EEG sincronizzata e per la diminuzione del tono muscolare posturale. Durante tale stadio, i fenomeni di oscillazione e sincronizzazione talamocorticali si traducono in un'attività sincrona delle sinapsi cerebrali, siano esse eccitatorie o inibitorie, ed è probabile che questo, attraverso meccanismi di sommazione temporale e spaziale, possa tradursi in scariche epilettiche (29,40-42); inoltre,

la conservazione del tono muscolare permette il verificarsi delle alterazioni motorie associate alle crisi epilettiche.

La relazione esistente fra attività epilettica e sonno NREM è confermata dalla tipica relazione temporale esistente fra gli spikes ed i fusi del sonno (attività sigma) (26); inoltre, uno studio condotto da Frauscher *et al.* nel 2015 ha messo in luce che la densità dei picchi correla anche con l'ampiezza delle oscillazioni lente, espressione di sincronizzazione elettrica (43).

1.3.2 *Epilessia e sonno REM*

Contrariamente a quanto visto per il sonno NREM, il sonno REM si caratterizza per la presenza di un'attività elettrica desincronizzata e per la depolarizzazione delle cellule talamocorticali, con conseguente blocco delle loro oscillazioni (41); inoltre, tipica del REM è la totale assenza di tono muscolare. Non a caso, il sonno REM è stato definito da Jouvet come “sonno paradossale”, in quanto caratterizzato da un “cervello molto attivo, in un corpo paralizzato” (44). Durante il sonno REM le cellule nervose scaricano in maniera asincrona, generando un'attività che ha minor probabilità di esitare in scariche epilettiche; inoltre, l'atonia muscolare tipica del REM impedisce il verificarsi dei classici movimenti associati alle crisi epilettiche.

1.3.3 *REM – fasica e REM – tonica*

Le differenze elettrofisiologiche del sonno NREM e REM ed i loro effetti contrastanti sull'attivazione delle anomalie epilettiche sono ormai note ed universalmente riconosciute (38).

Di più recente acquisizione è invece la teoria secondo cui il sonno REM possa essere ulteriormente suddiviso in due fasi, tonica e fasica (25), e che l'effetto soppressivo sugli

spikes epilettici non sia quindi un fenomeno uniforme, ma correli con la presenza o assenza dei movimenti oculari rapidi: alcuni studi di registrazione extra- ed intracranica hanno rilevato una riduzione degli spikes interittali in particolare in coincidenza con il verificarsi dei movimenti oculari rapidi (45,46).

È stato postulato che questa riduzione possa derivare da un livello di sincronizzazione inferiore durante il REM fasico rispetto al REM tonico, legato ad un maggiore tasso di attività colinergica (47).

Secondo i dati di letteratura, il REM fasico ed il REM tonico rappresentano quindi due microstati differenti, caratterizzati da un diverso effetto soppressivo e di protezione dell'encefalo nei confronti dell'attività epilettica (48).

1.4 FOCUS SULL'ESES – STATO EPILETTICO ELETTRICO IN SONNO

Lo studio proposto in questo elaborato è stato condotto su una coorte di pazienti affetti da ESES (Stato Epilettico Elettrico in sonno): questa scelta è legata al fatto che tale patologia, essendo per definizione una condizione di stato epilettico nel sonno, rappresenta l'espressione massima della relazione esistente fra il sonno e l'epilessia.

Il termine ESES è l'acronimo di “*Electrical Status Epilepticus during Sleep*”, in italiano “*Stato epilettico elettrico in sonno*” e viene usato per indicare un quadro elettroencefalografico di stato epilettico caratterizzato dalla presenza di punte – onde (*PO*; in inglese *Spike – Waves: SWs*) continue nel sonno. Questo termine fu coniato nel 1977 da Tassinari *et al.*: a loro si deve la descrizione di tale pattern EEG, caratterizzato da anomalie parossistiche pressoché continue nel sonno associate a crisi epilettiche ed anomalie cognitive – comportamentali (49).

Successivamente alla prima definizione di ESES, nel 1989 la Commission of Classification and Terminology (CCT) of ILAE (International League Against Epilepsy) ha adottato la terminologia “*Continuous Spike - Waves during slow wave Sleep (CSWS)*”, in italiano *POCS (Punte – Onda Continue nel Sonno)*, fornendone la seguente definizione:

“Epilepsy with continuous spike-waves during slow sleep results from the association of various seizure types, partial or generalized, occurring during sleep, and atypical absences when awake. Tonic seizures do not occur. The characteristic electroencephalography EEG pattern consists of continuous diffuse spike-waves during slow-wave sleep, which is noted after onset of seizures. Duration varies

from months to years. Despite the usually benign evolution of seizures, prognosis is guarded, because of the appearance of neuropsychologic[al] disorders.”² (50)

Per molti anni, in letteratura i termini ESES e CSWS sono stati usati in maniera interscambiabile, ad indicare sia il quadro sindromico, che il pattern EEG di punte – onde continue nel sonno ad esso correlato; nei lavori più recenti, invece, il termine ESES viene in genere riferito esclusivamente al pattern elettroencefalografico, riservando il termine CSWS alla sindrome ad esso associata (51); in questo elaborato seguiremo queste ultime indicazioni.

L'ESES può svilupparsi nel contesto di un ampio spettro di disturbi epilettici dell'infanzia, ma trova espressione soprattutto in tre patologie:

- Sindrome CSWS;
- Sindrome di Landau – Kleffner (sindrome “*Afasia acquisita associata ad epilessia*”)
- Epilessia benigna dell'infanzia con punte rolandiche ad evoluzione atipica (*Atypical BECRS - Benign Epilepsy of Childhood with Rolandic Spikes*) (52).

Ad oggi, le suddette sindromi sono classificate, appunto, come sindromi ESES – correlate e le loro principali caratteristiche cliniche ed elettroencefalografiche sono riassunte nella **Table 1.2** (52).

² "L'epilessia con punte ed onde continue durante il sonno lento consiste nell'associazione di vari tipi di crisi epilettiche, parziali o generalizzate, che si verificano durante il sonno e da assenze atipiche durante la veglia. Non si verificano convulsioni toniche. Il caratteristico pattern EEG è costituito da punte – onde diffuse e continue durante il sonno ad onde lente, e si nota dopo l'insorgenza delle convulsioni. La durata varia da mesi ad anni. Nonostante l'evoluzione solitamente benigna delle crisi epilettiche, la prognosi è riservata, a causa della comparsa di disturbi neuropsicologici."

Table. Clinical syndromes

Syndrome	Features	Epileptic focus	Sleep stage with high SWI and %
CSWS/ESES syndrome	Global cognitive decline, (atonic) seizures, motor disturbances	Frontocentral/frontotemporal Centrottemporal/Frontal	Non-REM >85% or >50%, most diffuse
Landau-Kleffner	Receptive/mixed aphasia, verbal agnosia, infrequent seizures	(Centro)temporal/posterior temporal/parietooccipital, (vertical dipole)	(Non-)REM Any % BTESES/unilateral/diffuse
Atypical BECTS	Most nocturnal (partial) seizures with cognitive and behavioral disturbances	Centro(temporal), (horizontal dipole)	(Non-)REM <50 or >50%, focal or diffuse

Table 1.2 la tabella fornisce un riassunto delle sindromi CSWS/ESES – correlate. BECTS è sinonimo di BECRS: Benign Epilepsy of Childhood with Rolandic Spikes. (51)

Dai dati di letteratura sull’argomento emerge che queste tre sindromi potrebbero in realtà rappresentare un unico spettro di patologie a differente “intensità”, con possibilità di viraggio da una forma all’altra; in questa prospettiva, la BECRS rappresenterebbe l’estremo benigno dello spettro patologico (53,54).

1.4.1 Aspetti epidemiologici

L’esatta incidenza dell’ESES non è conosciuta, in quanto la letteratura sull’epidemiologia è sparsa e difficile da analizzare, a causa delle notevoli differenze nella terminologia usata, nelle definizioni e nell’uso dei criteri di inclusione (31); sembra dunque si tratti di una condizione rara, ma probabilmente sottostimata (55).

Anche l’incidenza delle sindromi ESES – correlate non è ancora del tutto nota: l’esatta incidenza della sindrome di Landau – Kleffner è difficile da stimare, ma attenendosi in maniera rigorosa ai criteri di diagnosi, la patologia può essere considerata rara: dal 1957 al 2003, sono stati descritti e pubblicati 198 casi (56), mentre in una clinica psichiatrica di

Parigi, Dugas et al. (1976) hanno riportato un nuovo caso all'anno (57). La LKS colpisce maggiormente i maschi delle femmine, con un rapporto di 2:1 (58).

Per quanto riguarda la CSWS, i dati sono incerti: fra il 1971 and 1984, Tassinari et al. (1985) hanno riportato 19 casi, e altri 25 possono essere estrapolati dalla letteratura medica (56); i dati mettono in luce una preponderanza nel sesso maschile, con un rapporto maschio femmina di 4:3 o 3:2 (59–63).

Infine, la BECRS è una delle sindromi epilettiche focali idiopatiche dell'infanzia più comuni e meglio conosciute, verificandosi nel 15 – 24% dei pazienti giovani affetti da epilessia (64); vi è una predominanza nel sesso maschile (rapporto maschi:femmine di 2:1) e l'incidenza è di 10 – 20/100.000 bambini di età 0 – 15 anni (65,66).

Wirrell et al. hanno studiato retrospettivamente 42 bambini con epilessia rolandica ed hanno individuato

	<i>Atypical Feature</i>	No.	%
caratteristiche cliniche atipiche di malattia nel 50% dei casi; in particolare, nel 19% dei pazienti era presente un grado	<i>Atypical spike morphology</i>	1	2
	<i>Atypical spike location</i>	7	17
	<i>Atypical background</i>	6	14
	<i>Generalized spike and wave</i>	4	-
	<i>Focal slowing</i>	2	-
	<i>Temporal-frontal dipole</i>		
	<i>Present</i>	30	71
	<i>Absent</i>	2	5
	<i>Indeterminate</i>	10	24

Table 1.3 Caratteristiche EEG atipiche nel contesto dell'epilessia rolandica (66).

variabile di ritardo di sviluppo. Inoltre, nel 31% dei casi gli autori hanno identificato caratteristiche EEG atipiche, come per esempio una localizzazione e/o morfologia insolita degli spikes, un ritmo di fondo anomalo, la presenza del pattern ESES, ecc., come descritto in **Table 1.3** (67).

1.4.2 Parametri elettroencefalografici descrittivi dell'ESES

In letteratura sono presenti molteplici parametri di definizione e descrizione dell'ESES, suddivisi da Marjan Scheltens e de Boer in parametri qualitativi e quantitativi (52): fra quelli quantitativi, quello maggiormente utilizzato in letteratura è lo *Spike – Wave Index (SWI)*, che fornisce un dato percentuale di quantificazione degli spikes nel sonno; i limiti di questo parametro sono tuttavia molteplici: non vi è univocità, infatti, sui metodi per calcolarlo né sull'esatto valore soglia affinché si possa parlare di ESES: i valori considerati dai vari autori variano entro un range che va dal 25 all'85% (54,68–71) e, attualmente, la definizione di ESES fornita dall'ILAE non riporta alcun valore soglia (50).

Diversi autori hanno sviluppato dei sistemi di classificazione basati proprio sullo SWI: Mikati *et al.* (2002) hanno utilizzato una gradazione da 0 a 4 (72):

0. SWI = 0
1. SWI = 0 – 25%
2. SWI = 25 – 50%
3. SW = 50 – 75%
4. SWI = 75 – 100%

Beaumanoir (1995) distingueva invece quattro categorie (73):

1. CSWS^{**}: SWI > 85%;
2. CSWS^{*}: SWI = 50 – 80%;
3. CSWS⁻: SWI < 50%
4. CSWS⁰: nessuna attività epilettiforme.

Sempre nella categoria dei parametri quantitativi rientra il cosiddetto “*Epileptic Discharges Index - ED Index*”, utilizzato da Nobili *et al.* (26) e calcolato come rapporto fra il numero di spikes in un determinato stadio ed il tempo trascorso in quello stesso stadio ³.

Fra i parametri qualitativi, la *morfologia*, la *distribuzione* e la *diffusione dell’attività epilettica durante il sonno NREM* sembrano avere una certa rilevanza nell’ESES: attualmente, la maggior parte degli Autori descrive l’attività epilettica dell’ESES come un’attività ad onset focale con sincronizzazione bilaterale secondaria (58,68,69); tuttavia, in alcuni casi vengono riportati pattern a vario grado di lateralizzazione emisferica. Per esempio, Saltik *et al.* propongono una suddivisione delle caratteristiche dell’ESES in (54):

- *Near – ESES*: scariche di punte – onde lente continue, occupanti il 50 – 85% del sonno NREM con distribuzione bilaterale simmetrica o moderatamente asimmetrica.
- *Hemi – ESES*: ESES strettamente confinato ad un emisfero.
- *Asymmetric – ESES*: ESES predominante in un emisfero, con una differenza di voltaggio interemisferica significativa (>50%) fra gli spikes.

Inoltre, Saltik *et al.* riportano anche un’accurata classificazione dei foci epilettici sulla base della loro localizzazione e diffusione (54):

- *Single epileptogenic focus (SEF)*: attività unilaterale e a localizzazione ristretta;
- *Bilateral synchronous epileptogenic foci (BSEF)*: attività SW bilaterale e sincrona, in regioni analoghe dei due emisferi;

³ L’ED Index è il parametro quantitativo utilizzato anche in questo elaborato e calcolato come rapporto fra il numero di spikes in un determinato stadio del sonno, ed il tempo (in secondi) trascorso in quello stesso stadio.

- *Bilateral asynchronous epileptogenic foci (BAEF)*: attività SW bilaterale e asincrona, in regioni analoghe o non dei due emisferi;
- *Multiple epileptogenic foci (MEF)*: attività SW con almeno due localizzazioni fra loro indipendenti, in un singolo emisfero (*unilateral multiple epileptogenic foci, UMEF*) o in entrambi gli emisferi (*bilateral multiple epileptogenic foci, BMEF*);
- *Spreading focal epileptogenic discharges (SFEDs)*: attività SW focale con tendenza alla diffusione a regioni adiacenti e/o all'emisfero controlaterale;
- *Focal slowing*: attività focale, continua o parossistica, di frequenza inferiore rispetto alle aree adiacenti e alle regioni analoghe dell'emisfero controlaterale.

1.4.3 *Caratteristiche elettro- e neurofisiologiche dell'ESES*

Prima dell'insorgenza del franco pattern ESES, l'EEG di veglia può mostrare un'attività di fondo normale o alterata dalla presenza di punte – onde più o meno diffuse, spikes focali e altre anomalie, accompagnate o meno da correlati clinici (68,71). Le registrazioni EEG durante il sonno possono già mostrare un aumento delle anomalie interictali, non associate ad alterazioni del sonno (68).

Durante la fase attiva dell'ESES, si rendono manifeste una serie di caratteristiche, considerate ad oggi come criteri chiave di descrizione elettroencefalografica di tale pattern:

- Attivazione/potenziamento dell'attività epilettica durante il sonno;
- Presenza di attività epilettica a tipo punte – onde lente continue o subcontinue, più spesso bilaterali, meno frequentemente unilaterali;
- Ricorrenza delle punte – onde lente in gran parte del sonno NREM (59,68,74).

Durante la veglia, l'EEG può mostrare scariche di punte – onde, focali o sincrone bilateralmente, di frequenza pari a 2 – 3 Hz e con uno Spike Wave Index <25%; questi bursts

possono presentarsi con o senza manifestazioni cliniche correlate (56,68,71) e tendono a trarre origine e ad essere più evidenti nelle regioni anteriori (frontale/frontotemporale) per quanto riguarda la CSWS, temporali nella SLK e centrottemporali nella BECRS (56). Tali anomalie della veglia sono del tutto simili a quelle riscontrate prima dell'insorgenza dell'ESES, ma sono solitamente più marcate ed intense (68,75).

Durante il sonno si rende palese il pattern ESES, in particolar modo durante le fasi di sonno NREM, con una marcata attenuazione dell'attività epilettica nel sonno REM (1,26,70): non appena i pazienti si addormentano, compaiono bilateralmente e diffusamente i complessi di punta – onde lente continue, principalmente ad una frequenza di 1.5 – 2.5 Hz, persistenti durante tutta la durata del sonno NREM ed assenti in sonno REM, come evidente in **Figure 1.14** (1,59,68,71). Questo pattern viene rilevato in genere fra i 4 ed i 14 anni e si sviluppa 1 o 2 anni dopo la comparsa delle crisi epilettiche (68,71).

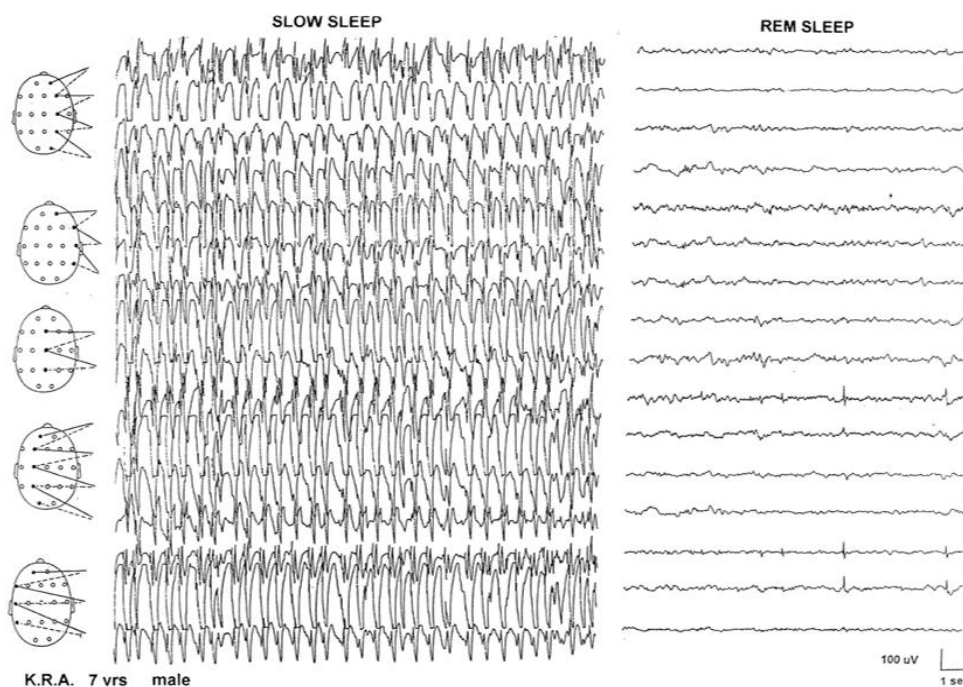


Figure 1.14 Durante il sonno lento (a sinistra), abbiamo un'immagine EEG coerente con ESES, caratterizzata da complessi di punta – onde continui e diffusi di 2.5 Hz, di maggiore ampiezza sul lato sinistro. Durante il sonno REM (a destra), scompaiono i complessi di punta – onde continui, mentre in sede frontotemporale sinistra ricompaiono degli spikes privi di diffusione.

Durante il sonno REM, l'attività parossistica diventa frammentata e meno continua e lo SWI diminuisce solitamente al di sotto del 25%; al contempo, diventano evidenti delle scariche epilettiche focali, a localizzazione prevalentemente frontale/frontotemporale nella CSWS, temporale nella SLK e centrotemporale nella BECRS: la morfologia EEG nel sonno REM è quindi analoga a quella della veglia (56,68).

Una caratteristica importante dell'ESES è la sua tendenza ad alterare la fisiologica architettura del sonno: le anomalie epilettiformi rendono difficoltosa la distinzione fra i vari stadi del sonno, in particolare nel contesto del sonno NREM; rimane invece agevole differenziare il sonno NREM da quello REM. Inoltre, anche nell'ESES è confermata la fisiologica proporzione fra sonno NREM e REM, con un rapporto di 4:1 (80% vs 20% ca.) (26,76). Con il risveglio, l'ESES scompare bruscamente, così come era apparso con l'addormentamento (68).

Durante il follow-up, dopo la risoluzione dell'ESES, sono stati osservati EEG normali sia nella veglia che nel sonno; tuttavia, è comunque possibile la persistenza di anomalie focali nel sonno per un tempo variabile dopo la scomparsa dell'ESES (68): in particolare, è stata notata la persistenza di spikes focali in regione frontale (56). La fisiologica organizzazione ciclica del sonno risulta normale nel follow up: tutti gli stadi del sonno sono presenti in regolare percentuale e con la fisiologica struttura (71).

1.4.4 *Eziologia*

L'esatta eziologia dell'ESES e delle relative sindromi non è ancora del tutto nota, ma nel complesso è stato attribuito un possibile significato eziologico a fattori quali malformazioni cerebrali e altri antecedenti neurologici, disordini immunologici e fattori genetici (55): mentre nella sindrome di Landau – Kleffner e nell'epilessia rolandica è molto rara la

presenza di lesioni cerebrali strutturali e queste, quando presenti, generalmente non hanno un significato eziopatologico (77), lo stesso non si può dire per la CSWS: sembra infatti che il 30 – 61% dei soggetti affetti da CSWS ha degli antecedenti neurologici congeniti o acquisiti, rappresentati da un ampio spettro di condizioni quali convulsioni neonatali, emiparesi congenita, meningite neonatale purulenta, ritardo psicomotorio, convulsioni febbrili, ecc (58,68); inoltre, fanno parte dei precedenti neurologici anche alcune lesioni cerebrali documentabili radiologicamente fra cui polimicrogiria, poroencefalia, emorragia neonatale intraventricolare, idrocefalo, ipoplasia cerebellare, leucomalacia periventricolare, lesioni ischemiche talamiche perinatali, pachigiria, atrofia corticale (55,58,63,78–84). Le anomalie elencate, essendo preesistenti all'ESES, possono associarsi ad alcune caratteristiche cliniche presenti precedentemente all'instaurarsi dell'ESES stesso, quali disabilità intellettiva, emiparesi congenita e/o diplegia spastica (71).

Uno dei reperti più comuni è l'atrofia unilaterale, mentre fra i disturbi della migrazione cellulare, la polimicrogiria sembra avere una particolare predilezione a manifestarsi con CSWS, diversamente dagli altri (58).

Per quanto concerne i fattori genetici, il loro ruolo nell'insorgenza dell'ESES è difficile da definire: nel complesso i dati suggeriscono che l'anamnesi familiare positiva per epilessia si riscontri solo nel 15% circa dei casi di ESES (71).

Nel corso degli anni, sono stati individuati alcuni geni potenzialmente coinvolti nella genesi dell'ESES, riassunti in **Table 1.4**:

Study	Type of study	Association
Beaumanoir et al., 1995 [104]	Case report	CSWS in two monozygotic twins
Praline et al., 2006 [105]	Case report	Two siblings with ESES and different clinical presentations
Verhoeven et al., 2012 [106]	Case report	One patient with CSWS and dysmorphic features carried a de novo 8q12.3q13.2 microdeletion
Godfraind et al., 2008 [107]	Case report	One patient with CSWS carried a G392R mutation in neuroserpin of probable pathogenic significance (the mutation led to a progressive neurodegenerative disease and CSWS)
Nakayama et al., 2012 [108]	Case series (2 patients with CSWS)	Two patients with CSWS and dysmorphic features carried an unbalanced translocation between 8p and 9p
Broli et al., 2011 and Giorda et al., 2009 [109, 110]	Case series (2400 subjects with isolated or syndromic intellectual disability)	Five patients with CSWS carried a Xp11.22-p11.23 duplication
Kevelam et al., 2012 [40]	Case series (13 children with ESES and different clinical presentations)	Two patients with CSWS carried copy number variations in CHRNA7 and PCYT1B genes of probable pathogenic significance
Mefford et al., 2011 [111]	Case series (315 patients with different epileptic encephalopathies, 29 had CSWS or Landau-Kleffner syndrome)	One patient with CSWS carried a copy number variant in the DOK5 gene of uncertain pathogenic significance
Reutlinger et al., 2010 [112]	Case series (3 patients with ESES and different clinical presentations)	Three patients with ESES and different clinical presentations and dysmorphic features carried a deletion in 16p13.2p13.13
Atkins and Nikanorova, 2011 [66]	Case series (20 patients with ESES and different clinical presentations)	One patient with ESES (no further details on clinical presentation) carried a partial trisomy 13/21

Table 1.4 Fattori genetici potenzialmente associati con CSWS. (75)

Le sindromi LKS e CSWS, in particolare, sembrano avere una forte correlazione con mutazioni di GRIN2A (16p13.2), gene che codifica per una proteina chiamata GluN2A (nota anche come NR2A), la quale costituisce una sotto unità del recettore NMDA (N – metil – D – aspartato) del glutammato; è importante notare che NR2A può essere identificata in alte concentrazioni in alcune aree cerebrali cruciali per la parola ed il linguaggio, mentre i recettori NMDA sono coinvolti in una vasta gamma di funzioni legate alla memoria e all'apprendimento. Inoltre, le alterazioni del gene GRIN2A correlano con un numero considerevole di disturbi del neurosviluppo che possono includere l'epilessia fra le manifestazioni cliniche (85,86).

Nonostante le suddette anomalie genetiche siano state individuate, il loro ruolo patogenetico resta ancora in gran parte imprecisato (87).

Infine, anche i disordini immunologici potrebbero avere delle implicazioni nella genesi dell'ESES: per quanto riguarda le sindromi CSWS e Landau – Kleffner, in letteratura sono stati riportati dei casi di pazienti affetti che presentavano anche una positività per anticorpi onconeurali e per autoanticorpi diretti contro il fattore neurotrofico cerebrale (*BDNF – Brain-Derived Neurotrophic Factor*) (88,89).

1.4.5 *Patogenesi: “la sindrome di Penelope”*

Le tre sindromi ESES – correlate condividono probabilmente uno stesso meccanismo patogenetico, con differenti gradi di espressione: alla base dello stato epilettico elettrico vi potrebbe infatti essere una compromissione della maturazione cerebrale durante i primi anni di vita, responsabile della genesi di networks neuronali ipereccitabili; la diversa localizzazione topografica di tali networks renderebbe ragione delle diverse presentazioni cliniche (31).

Nell'ESES, come nelle altre forme di epilessia, le punte – onde continue vengono originate e diffuse dallo stesso circuito che determina la formazione dei fusi del sonno (vedere capitolo **Sonno ed Epilessia**); in altre parole i fusi, in condizioni di ipereccitabilità corticale, potrebbero trasformarsi in scariche di punte e onde sincrone bilateralmente e questo meccanismo troverebbe il suo fondamento sulle proprietà dei recettori del GABA (26): i recettori GABA_B sembrano infatti incrementare l'incidenza di scariche di punte – onde, mentre la loro inibizione avrebbe l'effetto opposto (90). In condizioni fisiologiche, quando i neuroni reticolari depolarizzano, rilasciano GABA ai neuroni reticolari adiacenti; i recettori GABA_A mediano un fenomeno inibitorio che ha la funzione di limitare il numero

di neuroni coinvolti, evitando così un fenomeno diffuso di ipersincronizzazione dei neuroni reticolari; nell'ESES si verificherebbe uno shift da una fisiologica predominanza della neurotrasmissione GABA_A ad una patologica prevalenza della neurotrasmissione GABA_B: la patologica downregolazione dei recettori GABA_A potrebbe quindi causare delle scariche sincrone di neuroni reticolari, con conseguente generazione di oscillazioni ad ampio voltaggio (91); i neuroni GABA_B sembrano associarsi ad una maggior latenza nella trasmissione sinaptica, e questo potrebbe spiegare la minor frequenza delle punte – onde dell'ESES (2,5 – 3,5 Hz) rispetto alla frequenza tipica dei fusi del sonno (7 – 14 Hz) (91). Pertanto, secondo questa ipotesi, le punte – onde patologiche caratteristiche dell'ESES potrebbero essere considerate la versione più lenta e ad alto voltaggio dei fusi del sonno (91). L'ipotesi che il deficit di GABA_A possa favorire l'attivazione di scariche epilettiche durante il sonno è supportata, effettivamente, dall'efficacia delle benzodiazepine selettive per GABA_A nel parziale controllo delle scariche epilettiche (92).

Le teorie più recenti ipotizzano che un insulto primario, come un focus epilettogeno a livello corticale, vada a facilitare la genesi di una scarica da parte di un neurone reticolare e che questo potrebbe causare uno squilibrio normale rapporto fra GABA_A e GABA_B (91).

Riassumendo, gli studi più recenti suggeriscono che i fusi del sonno e le punte – onde generalizzate potrebbero condividere lo stesso meccanismo: i fusi del sonno avrebbero quindi origine dal circuito riverberante talamico, e sfrutterebbero le radiazioni talamocorticali per diffondere; al contrario, le punte – onde trarrebbero origine dalla corteccia cerebrale e andrebbero ad alterare la fisiologica trasmissione nel circuito riverberante talamico portando ad un'aumentata inibizione tonica GABAergica dei neuroni talamocorticali con conseguente mantenimento delle punte – onde nel circuito neuronale cortico – talamocorticale (31).

I meccanismi responsabili della compromissione neuropsicologica verranno sono accennati in questo elaborato; pare che l'attività epilettica avrebbe un effetto negativo sulle funzioni cerebrali e tale effetto può essere di due tipi (93):

- Interruzione transitoria della funzione cognitiva (*Transitory Cognitive Impairment – TCI*), con ripercussioni dirette sul comportamento presenti solo ed esclusivamente durante il verificarsi delle scariche epilettiche;
- Alterazione dei fisiologici meccanismi coinvolti nella plasticità neuronale e nella memoria, con conseguenti disfunzioni croniche.

Per quanto riguarda il primo punto, è ormai risaputo che durante le scariche di punta – onde generalizzate della veglia, i pazienti epilettici manifestano una fase di impairment cognitivo – comportamentale in forma di alterazione dello stato di coscienza, scarsa risposta agli stimoli esterni, automatismi, clono palpebrale, ecc.; questi eventi sono spesso seguiti da amnesia per l'accaduto (94–98). Vi sono anche molte prove che dimostrano che gli spikes interictali all'EEG possono produrre transitorie alterazioni della sfera cognitiva, spesso coinvolgenti funzioni mediate dalle aree cerebrali interessate dagli spikes (98–101); la localizzazione topografica delle alterazioni epilettiche, quindi, sembra essere importante per le caratteristiche cliniche dell'encefalopatia epilettica: deficit visuo – spaziali sono stati documentati in caso di ESES a localizzazione occipito – temporale (102), mentre la sindrome disesecutiva frontale è stata segnalata in associazione alla predominanza dell'ESES nelle regioni cerebrali anteriori (103).

Per quanto riguarda, invece, l'alterazione dei fisiologici meccanismi coinvolti nella plasticità neuronale e nella memoria da parte dell'attività epilettica, entra qui in gioco una struttura nervosa molto importante, l'ippocampo: si tratta della la regione cerebrale in cui convergono e vengono integrate molte informazioni sensoriali allo scopo di formare le

memorie dichiarative (episodica e semantica) (104). Il sonno NREM, grazie alla sua attività elettrica lenta, ricopre un ruolo cardine nell'apprendimento e nella memoria e ciò è confermato dal fatto che la privazione di sonno compromette tali processi cognitivi (105,106), mentre l'aumento del sonno migliora la capacità di memorizzazione (107,108). Stando a questi concetti, nelle sindromi ESES – correlate l'attività epilettica prolungata durante il sonno interferirebbe con la SWA (Slow Wave Activity) nella zona del focolaio epilettico, compromettendo i processi neuronali e di plasticità sinaptica associati all'apprendimento e ad altre funzioni cognitive (109); le disfunzioni croniche da ciò derivate sembrano correlare in modo selettivo con la localizzazione delle anomalie epilettiformi (110). Se, quindi, un fenomeno epilettico si manifesta durante la sinaptogenesi o la redistribuzione sinaptica, è possibile che venga alterato il rimodellamento dei circuiti cerebrali che modulano gli aspetti cognitivi e comportamentali (111); la massiccia attivazione e diffusione delle anomalie elettroencefalografiche parossistiche durante il sonno NREM, che abbiamo visto essere una caratteristica distintiva dell'ESES, potrebbe impedire la vicariazione delle funzioni compromesse da parte dell'emisfero controlaterale (56).

Un altro aspetto, di più recente individuazione, da tenere in considerazione, è quello del metabolismo cerebrale: degli interessanti studi condotti da De Tíége *et al.* con la PET hanno evidenziato in pazienti con sindrome CSWS un fenomeno di inibizione del metabolismo cerebrale nelle regioni frontali, operato dalle regioni corticali posteriori ad alta epilettogenicità e

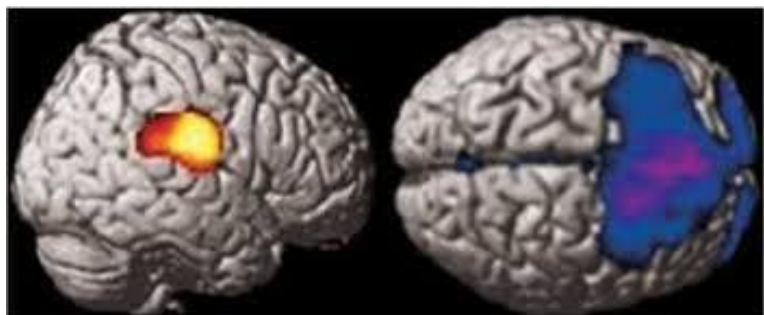


Figure 1.15 Le immagini di neuroimaging funzionale (PET) mostrano la presenza di un'area caratterizzata da ipermetabolismo in corrispondenza del giro postcentrale e della giunzione parietotemporale (a sinistra) e l'ipometabolismo presente invece nelle zone frontali (a destra) (172)

ipermetabolismo; inoltre, la risoluzione del pattern ESES era seguito da una regressione, completa o quasi, sia delle aree iper- che delle aree ipometaboliche. Il dato suggerisce che non sia di per sé l'attività epilettogena a creare un danno, ma che si verifichi un danno funzionale in aree corticali a distanza rispetto a quelle francamente epilettogene in conseguenza della condizione di ipometabolismo cerebrale (vedere **Figure 1.15**) (112,113).

Viste tutte queste considerazioni, viene da sé l'intuizione che, essendo l'ESES caratterizzato da punte – onde per una buona percentuale del sonno NREM, questo potrebbe interferire con i processi di consolidamento della memoria e di apprendimento (93); da ciò deriva la definizione di *Sindrome di Penelope* fornita da Tassinari et al. (2009): Penelope, moglie di Ulisse, per ingannare i proci che la volevano in moglie, disfaceva durante la notte il sudario che tesseva durante il giorno promettendo che solo una volta ultimato il suo lavoro si sarebbe concessa in sposa a uno di loro; analogamente nell'ESES, la “filatura” diurna di costruzione di nuove reti neuronali viene cancellata dall'attività epilettica notturna (114).

“As in the myth of Penelope, the wife of Odysseus, what is weaved during the day will be unraveled during the night.”⁴ (114)

1.4.6 *Diagnosi*

Elemento portante per la diagnosi dell'ESES è l'elettroencefalogramma, che evidenzia il classico pattern di punte – onde continue durante il sonno: per rilevarlo, è fondamentale eseguire almeno una registrazione EEG nel sonno; poiché molti soggetti non raggiungono

⁴ “Come nel mito di Penelope, moglie di Ulisse, ciò che viene tessuto durante il giorno, verrà disfatto durante la notte.”

lo stadio di sonno NREM durante una registrazione routinaria, molto spesso si rende necessario eseguire una polisonnografia durante tutta la durata della notte, essendo l'attività epilettica presente maggiormente durante il sonno ad onde lente (55).

È importante sottoporre a Risonanza Magnetica (RM) cerebrale i soggetti che mostrino segni neurologici o ritardo dello sviluppo psicomotorio prima della comparsa della CSWS, poiché, come già visto, non è insolita la presenza di antecedenti neurologici congeniti o acquisiti in tale sindrome (115); le indagini di neuroimaging non sono invece raccomandate in prima linea nei casi di LKS ed epilessia rolandica, vista la natura non lesionale di tali sindromi (116).

Per quanto riguarda la compromissione neuropsicologica, consistente in una regressione globale o parziale delle funzionalità cognitive, esistono molteplici tests da sottoporre ai pazienti: in particolare, i tests di valutazione dell'IQ più utilizzati sono rappresentati dalle Scale Wechsler (*Wechsler Adult Intelligent Scale – WAIS*) e dalle matrici di Raven o matrici progressive (117). Nell'epilessia rolandica le valutazioni psicometriche sono ancora scarsamente utilizzate, nonostante siano stati ormai dimostrati sia la presenza, piuttosto frequente, di comorbilità linguistiche, deficit di alfabetizzazione e deficit di attenzione, sia il loro impatto sull'andamento scolastico e sulla qualità della vita (116).

Attualmente, l'analisi genetica di GRIN2A (e degli altri geni potenzialmente coinvolti nell'ESES) non rientra nelle procedure cliniche di routine, anche se il test è disponibile in alcuni centri specializzati; tuttavia, poiché nelle famiglie con una mutazione di GRIN2A è stata proposta una trasmissione autosomica dominante, in esse può essere suggerita la consulenza genetica (77).

In alcuni paesi, come la Norvegia, la valutazione degli anticorpi neuronali nel siero è raccomandata prima dell'inizio del protocollo di trattamento (77).

1.4.7 *Trattamento*

La **Figure 1.16** propone un possibile schema terapeutico per il trattamento delle sindromi ESES – correlate (74):

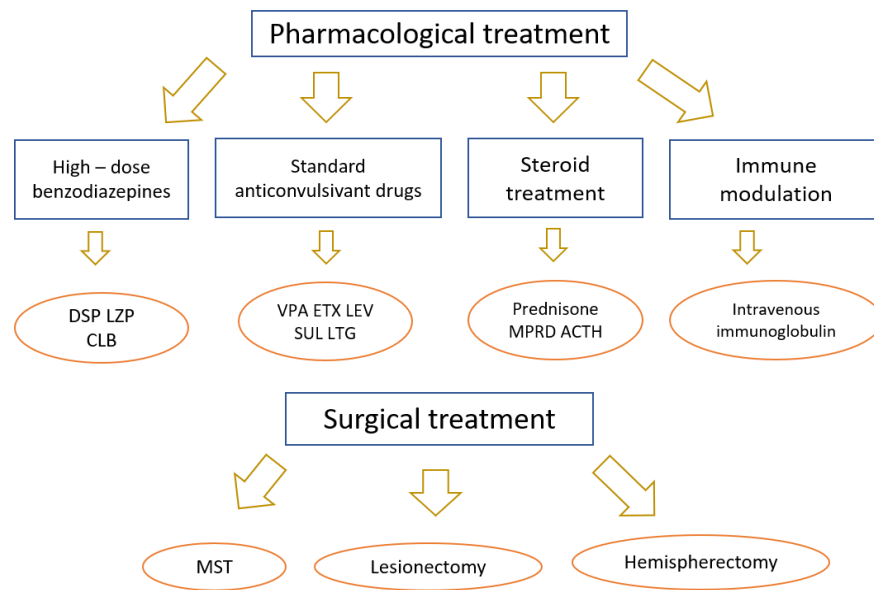


Figure 1.16 Proposta di schema terapeutico fornita da Loddenkemper et al. (2013). Legenda - ACTH: ormone adrenocorticotropo. CLB: clobazam. DZP: diazepam. ETX: etosuccimide. LEV: levetiracetam. LTG: lamotrigina. LZP: lorazepam. MPRD: metilprednisolone. MST: transezione subpiale multipla. SUL: sulthiame. VPA: valproate. (75)

Farmaci antiepilettici (ADs – Anti-Epileptic Drugs)

I farmaci antiepilettici maggiormente utilizzati nella CSWS includono acido valproico, etosuccimide e levetiracetam (60); quest'ultimo in particolare sembra essere efficace nel ridurre l'ampiezza e la diffusione delle scariche epilettiche sebbene, secondo gli studi di Aeby *et al.*, tale farmaco riduca significativamente lo SWI solo nel 25% dei casi (69). Sebbene la fenitoina (PHT), la carbamazepina (CBZ) e il fenobarbital (PB) possano ridurre le crisi epilettiche, tali farmaci sono controindicati nell'ESES in quanto possono peggiorare l'esito neuropsicologico ed il pattern EEG (118).

Il sultiame è efficace soprattutto in caso di epilessia parziale benigna con evoluzione atipica a sindrome ESES (119).

La maggior parte dei farmaci antiepilettici determina una normalizzazione dell'architettura del sonno, con diminuzione della latenza di insorgenza del sonno, del numero di risvegli o arousals e del tempo trascorso in veglia dopo l'inizio del sonno (1,120–122): questi miglioramenti si verificano in coincidenza con il controllo delle crisi epilettiche e quindi, probabilmente, ne rappresenta una diretta conseguenza (1,120,122). Tuttavia, rimane comunque la possibilità che il miglioramento dell'architettura del sonno avvenga in maniera indipendente e svolga esso stesso un ruolo di potenziamento dell'effetto terapeutico degli AEDs (1).

Le dosi di anticonvulsivanti vengono progressivamente ridotte, fino alla sospensione, 1 – 2 anni dopo il completo controllo delle crisi epilettiche, anche nei casi in cui l'EEG non si sia normalizzato completamente (64).

Benzodiazepine ad alte dosi

Le benzodiazepine si sono dimostrate efficaci nel ridurre l'attività epilettica nel breve termine: il controllo transitorio dell'ESES è stato osservato dopo somministrazione di clonazepam e di diazepam; quest'ultimo, avendo un'emivita più breve del clonazepam, potrebbe essere vantaggioso nelle sindromi ESES – correlate, nelle quali l'attività epilettica è maggiormente presente durante la notte (60,74).

Terapia immunomodulante con steroidi ed ormone adrenocorticotropo (ACTH)

Diversi reports hanno confermato che il prednisone per OS (2 – 5 mg/kg/die), il metilprednisolone EV (20 mg/kg/die*3 days) e l'ormone ACTH IM (80 IU/die con tapering in 3 mesi) sono efficaci nel determinare un miglioramento sia del pattern EEG, sia delle

alterazioni neuropsicologiche (123,124): uno studio retrospettivo di 8 bambini con LKS e 2 bambini con CSWS trattati con prednisone orale (1 mg/kg per un minimo di 6 mesi) ha mostrato un'evoluzione positiva in tutti i pazienti, eccetto uno, con significativi miglioramenti di linguaggio, funzioni cognitive e comportamento (125).

Sebbene molti autori siano a favore dell'uso di corticosteroidi ad alto dosaggio per lunghi periodi, non sono ancora disponibili studi randomizzati che definiscano la durata ed il dosaggio raccomandati (55); i dati di letteratura disponibili suggeriscono che quanto prima si inizia la terapia con steroidi, tanto migliore sarà l'outcome e minore la durata del trattamento (123); il tapering potrebbe associarsi ad una ripresa dell'ESES e della compromissione neuropsicologica, con conseguente necessità di prolungamento del trattamento (60,123).

Terapia immunomodulante con gammaglobuline intravenose

Alcuni reports hanno suggerito che le gammaglobuline per via endovenosa possono dare beneficio in alcuni bambini affetti da sindromi ESES – correlate (126,127): Mikati *et al.* (2002) hanno trattato 5 bambini affetti da LKS di nuova diagnosi con immunoglobuline (IVIG) (2 g/kg per 4 giorni): di questi, 2 pazienti su 5 hanno risposto positivamente alla terapia, con risoluzione delle gravi anomalie elettroencefalografiche e del linguaggio (72). Tuttavia, le IVIG scarseggiano e il costo è elevato; inoltre, sono necessari studi in doppio cieco e controllati con placebo per dimostrarne l'efficacia e quindi per definire il miglior regime di dosaggio e il timing della terapia (55).

Trattamento chirurgico

Alcuni pazienti affetti da CSWS possono beneficiare del trattamento chirurgico: una possibile opzione chirurgica è la *transezione subpiale multipla (Multiple Subpial*

Transaction – MST): i primi a fare ricorso a tale intervento furono Morrell *et al.* (1989); questa tecnica consiste nell'effettuazione di piccoli tagli orizzontali a livello di fibre intracorticali, al fine di interrompere la sincronizzazione epilettica corticale, senza compromettere le principali vie di connessione nervosa e vascolare ad orientamento verticale (111,128). La procedura ha comportato importanti miglioramenti della regressione linguistica nei casi di LKS farmaco – resistenti (111) e potrebbe rivelarsi utile anche in quadri con coinvolgimento più diffuso delle funzioni cognitive secondario ad ESES (60): Nass *et al.* (1999) hanno riferito un miglioramento della regressione epilettica autistica in diversi casi, a seguito di MST della neocorteccia sinistra nelle regioni temporale, frontale e parietale (129). Ad oggi, questa tecnica chirurgica non trova ancora ampio uso e sono necessari ulteriori studi in coorti più ampie di pazienti pediatriche per valutarne l'effettiva efficacia (55).

Secondo uno studio condotto da Loddenkemper *et al.* in 8 pazienti con ESES associato a lesioni cerebrali strutturali unilaterali, gli interventi di chirurgia resettiva ed emisferectomia sembrerebbero determinare un miglioramento del quadro clinico ed elettroencefalografico (130).

Altre opzioni terapeutiche

La *dieta chetogenica* ha dato dei miglioramenti a lungo termine nel linguaggio, nel comportamento e nel controllo delle crisi epilettiche in pazienti affetti da sindrome di Landau – Kleffner refrattaria alle terapie tradizionali (131).

La *stimolazione del nervo vago* ha altresì determinato degli effetti positivi (132).

Conclusioni e prospettive terapeutiche

Nel complesso, i risultati della metanalisi condotta da Van Den Munckhof *et al.* suggeriscono che il trattamento con steroidi e, in casi selezionati, la chirurgia rappresentano la strategia più efficace nelle sindromi ESES – correlate: per questi approcci terapeutici sono state infatti segnalate percentuali di successo tra l'80% e il 90%, in termini di miglioramento EEG e/o cognitivo. Le benzodiazepine possono essere considerate una valida alternativa, con un tasso di successo complessivo del 59 – 69%. I convenzionali farmaci antiepilettici sono risultati meno efficaci, determinando un miglioramento clinico e EEG nel 34 – 49% dei casi (133).

Il normale sviluppo prima dell'insorgenza dell'ESES sembra essere un significativo predittore del successo del trattamento; tuttavia, in molti pazienti non è chiaro se lo sviluppo anomalo "preesistente" sia indipendente dall'ESES, o ne rappresenti il primo segno (133). Il ritardo diagnostico è un altro fattore rilevante ed è associato ad una compromissione neuropsicologica più grave (134).

Nel complesso, sono stati registrati risultati migliori nei casi di ESES ad eziologia sconosciuta, rispetto ai casi con lesioni strutturali, ad eccezione dei pazienti trattati chirurgicamente (54).

Nei bambini con LKS refrattaria al trattamento, è attualmente in corso un trial con cannabidiolo (tetraidrocannabinolo fornito come sospensione a base di olio) (Fase 1); un altro studio randomizzato sta confrontando l'uso dell'acetazolamide (uso orale, 8 – 10 mg/kg per 4 – 8 settimane) con il diazepam (uso orale, 0,5 mg/kg per 4 settimane) in pazienti con CSWS e LKS (77).

Tra le strategie non farmacologiche, Pedro et al. (2005) hanno pubblicato un caso di un paziente affetto da LKS che, dopo 11 anni di interventi farmacologici ed educativi privi di efficacia, è stato trattato con successo attraverso un approccio multimodale incentrato sulla facilitazione della comunicazione interemisferica (135); la sperimentazione di nuovi approcci multimodali non farmacologici è quindi certamente un'altra opzione da studiare (77).

Recentemente, Wilson et al. (2018) (136) hanno condotto uno studio riguardante l'uso dell'amantadina in pazienti refrattari alle terapie convenzionali, o nei quali l'efficacia dei farmaci antiepilettici sia stata compromessa da scarsa tollerabilità; il ricorso all'amantadina è stato supportato dalle evidenze circa la sua efficacia nel trattamento dell'epilessia con assenze refrattaria (137) e dall'ipotesi che tale farmaco possa avere un'azione mirata sui meccanismi sottesi dall'ESES: gli autori hanno infatti ipotizzato che la stimolazione del pathways dopaminergico da parte dell'amantadina possa desincronizzare le oscillazioni corticotalamiche interrompendo così il pattern ESES; anche se l'amantadina è un antagonista relativamente debole del recettore NMDA (138), questo suo meccanismo ha portato ad un rinnovato interesse verso tale farmaco in seguito alla scoperta del ruolo eziopatogenetico delle mutazioni di GRIN2A (85,86,139,140). I risultati dello studio hanno suggerito che l'amantadina è efficace nel trattamento dell'ESES refrattario, infatti la maggior parte dei pazienti ha manifestato un beneficio clinico soggettivo e quasi un terzo dei pazienti ha mostrato una drastica riduzione delle anomalie epilettiformi; nonostante ciò, sono necessari ulteriori studi per confermare l'efficacia e la sicurezza dell'amantadina, per delinearne i meccanismi d'azione e per meglio determinare i migliori candidati al trattamento (136).

1.4.8 *Prognosi*

La maggior parte dei soggetti affetti da ESES va incontro ad un miglioramento nei primi anni dell'adolescenza: l'EEG nel sonno può tornare alla normalità, le crisi epilettiche diventano meno frequenti e possono anche cessare completamente; in genere, si osserva anche un miglioramento della sfera cognitivo - comportamentale, ma spesso in maniera insoddisfacente: molti soggetti, infatti, continueranno a manifestare difficoltà di apprendimento e/o problemi di comportamento. Raramente, l'ESES può perdurare anche nell'età adulta: in tal caso, la prognosi a lungo termine è gravemente inficiata, con scarsissime possibilità di recupero completo (141).

2 SCOPO DELLA TESI

In questo elaborato vengono riportati una revisione dei dati di letteratura ed un contributo casistico condotto su una coorte di 5 pazienti affetti da ESES, di età compresa fra i 5 ed i 10 anni; l'obiettivo dello studio è duplice:

- analizzare l'influenza che i vari stadi del sonno esercitano sull'attivazione epilettiforme; in particolare, è stata posta particolare attenzione allo stadio di sonno REM ed al grado di soppressione epilettica operato dal microstato REM – fasico rispetto al REM – tonico;
- valutare l'influenza dei vari stadi del sonno sulla distribuzione topografica degli spikes.

È stato scelto un pool di pazienti affetti da ESES, in quanto tale condizione rappresenta la massima espressione ed il grado più estremo di attivazione epilettica durante il sonno; si tratta infatti, come visto, di un pattern elettroencefalografico caratterizzato da una massiccia attivazione dell'attività epilettiforme, diffusa ed interessante gran parte del sonno NREM (1,26,70).

Sulla scia di altri studi già presenti in letteratura (48), questo elaborato ha quindi lo scopo di mettere in luce l'influenza dello stadio del sonno sull'attivazione e distribuzione topografica delle anomalie epilettiformi e di valutare se tale influenza sia presente anche in una condizione così estrema, quale l'ESES.

3 MATERIALI E METODI

In questa tesi viene presentato uno studio osservazionale prospettico condotto su un piccolo gruppo di pazienti selezionati nella coorte di pazienti pediatrici seguiti presso il Centro Epilessia dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini – U.O.C. di Neuropsichiatria Infantile – Responsabile Prof. Armando Cama. In particolare, previo consenso informato da parte del genitore/tutore, sono stati reclutati 5 pazienti soddisfacenti i seguenti criteri di inclusione:

- età cronologica inferiore ai 18 anni;
- diagnosi elettroencefalografica di ESES;
- possibilità di collaborare ad uno studio EEG con polisonnografia della durata di una notte.

Per ogni paziente sono stati raccolti i dati clinici, elettroencefalografici, neuroradiologici, neuropsicologici e genetici; in particolare, le variabili considerate sono state le seguenti: età al momento dell'effettuazione della registrazione polisunnografica; sesso; età di insorgenza delle crisi; familiarità per epilessia; obiettività neurologica; status cognitivo e comportamentale; tipo e frequenza delle crisi epilettiche; registrazioni elettroencefalografiche in veglia e sonno; imaging cerebrale; terapia in atto; farmacoresistenza intesa come mancata risposta ad almeno due farmaci antiepilettici (sì/no); eventuali indagini genetiche.

La registrazione EEG prolungata è stata effettuata con sistema EBNeuro holter con 16 canali EEG posizionati secondo Sistema Internazionale 10 – 20 (vedere **Figure 3.1**), 1 canale ECG, 2 canali EMG posizionati a livello mentoniero, 4 canali di elettroculogramma destro e sinistro; dal tracciato polisunnografico è stato selezionato il periodo di sonno notturno e successivamente scorato con il programma deePSG, secondo la tradizionale classificazione

AASM (American Accademy of Medicine Sleep) del 2007 (22); il sonno REM è stato inoltre

suddiviso in fasi di

REM fasico e

tonico, sulla base

della presenza o

assenza dei

movimenti oculari

rapidi,

rispettivamente: in

particolare, nel

contesto del sonno

REM abbiamo

classificato come

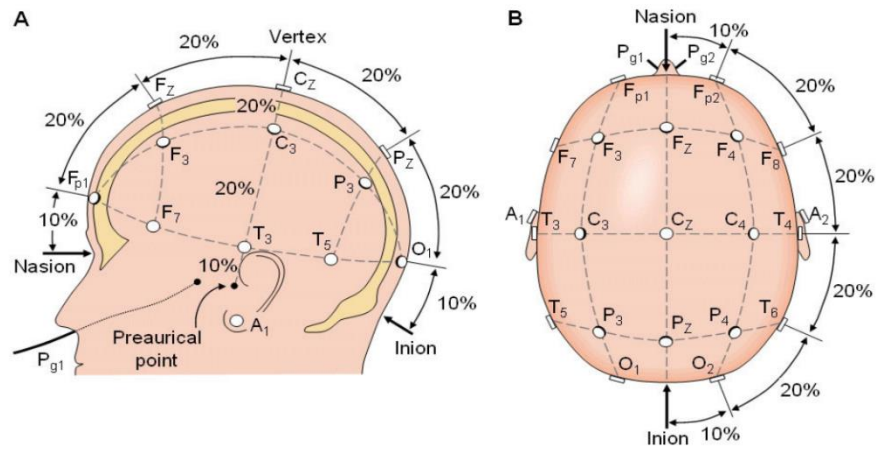


Figure 3.1 Posizionamento standard degli elettrodi secondo il “sistema internazionale 10-20”; gli elettrodi, in numero di 10 – 20, vengono collocati lungo cinque linee: 1) P1: longitudinale esterna dx; 2) P2: long. interna dx; 3) centrale; 4) P1: longitudinale esterna sx; 5) P2: long. interna sx. La linea trasversa T4-C4-Cz-C3-T3 (risultante delle precedenti) viene denominata montaggio P3. Alla posizione che ogni elettrodo occupa sullo scalpo fa riferimento una sigla formata da una/due lettere, che permettono di identificare la regione della corteccia esplorata (Fp: frontopolare; F: frontale; C: centrale; P: parietale; T: temporale; O: occipitale) e da un numero (o una z) che identifica l'emisfero (numeri dispari: sinistra; numeri pari: destra; z: linea mediana).

REM fasico tutti i segmenti contenenti bursts di movimenti oculari rapidi della durata di

almeno 3 secondi, in accordo con le indicazioni proposte da Nobili *et al.* (25) (vedere **Figure**

3.2; Figure 3.3).

Il segnale dei canali EEG è stato filtrato in frequenza nella banda 4 – 32 Hz e nello spazio

per mezzo del "Surface Laplacian" (142,143).

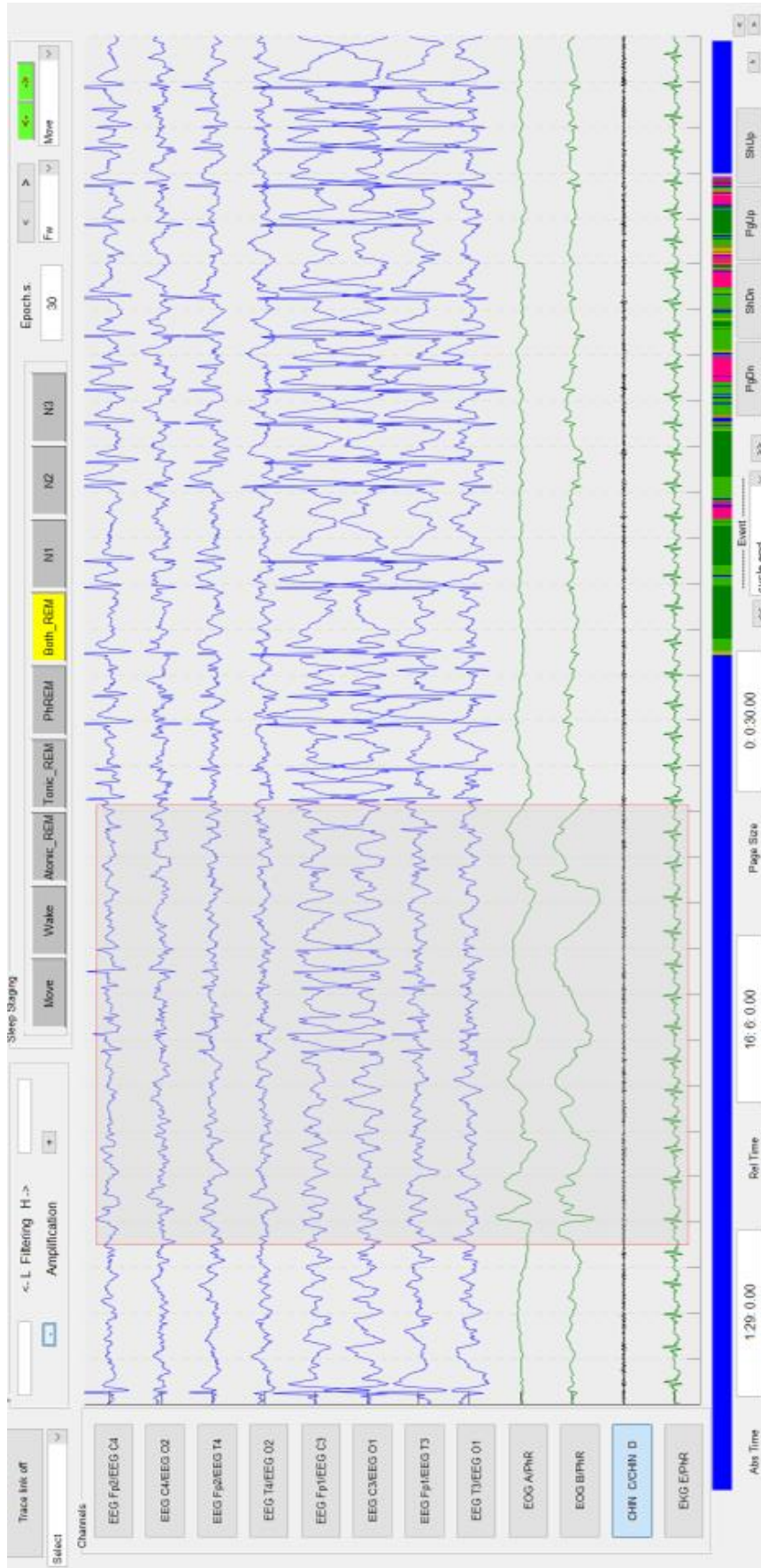


Figure 3.2 Immagine tratta dal programma deepPSG: viene messa in luce la suddivisione del REM in fasico e tonico; in particolare, vengono classificati come REM fasico i segmenti contenenti bursts di movimenti oculari rapidi della durata di almeno 3 secondi

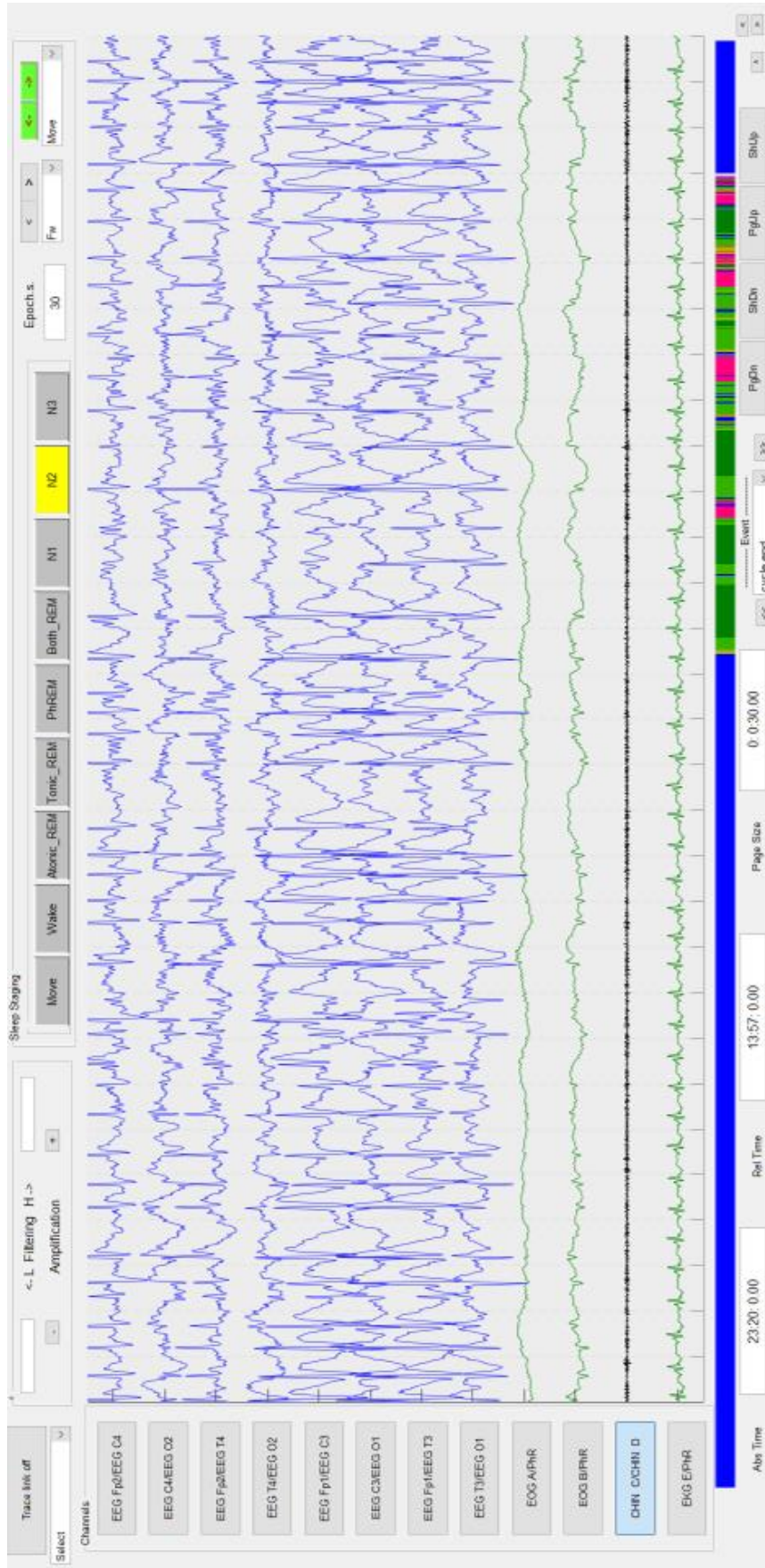


Figure 3.3 Immagine tratta dal programma deerpSC: si tratta di un'epoca (30 secondi) di sonno NREM, stadio N2: sono evidenti le anomalie epilettiformi diffuse a tutti i canali EEG.

Al fine di identificare in maniera automatica le punte epilettiche nel modulo del segnale di ogni singolo canale è stata poi applicata separatamente la funzione "find_peaks"⁵ contenuta nella libreria SciPy (144): tale funzione ha lo scopo di determinare gli spikes di un segnale unidimensionale, sulla base di opportuni vincoli e condizioni predefiniti dall'utente in maniera euristica:

- distanza minima tra i picchi di 300ms (in caso di violazione di questa condizione, vengono rimossi prima i picchi più piccoli);
- altezza minima dei picchi pari alla mediana dell'involuppo del segnale, ottenuto mediante trasformata di Hilbert;
- larghezza del picco di un singolo punto;
- minima distanza verticale tra il picco ed i suoi punti vicini pari al quantile di ordine 0.85 del modulo della derivata dell'involuppo del segnale. Il risultato di tale operazione consiste in un insieme di 16 liste, una per ogni canale EEG, ciascuna contenente gli istanti corrispondenti ai picchi delle supposte punte epilettiche. Tali liste vengono poi raffinate imponendo l'ulteriore vincolo che ad ogni potenziale punta epilettica ne corrisponda almeno un'altra in un canale diverso ed in un intervallo temporale di 300ms prima e dopo la punta stessa **Figure 3.4**).

Una volta identificate le punte epilettiche con i metodi ed i criteri di cui sopra, è stata effettuata la conta degli spikes e la valutazione dell'ED index, calcolato come rapporto tra il numero di spikes in un determinato stadio del sonno, ed il tempo (in secondi) trascorso in quello stesso stadio.

⁵ https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.signal.find_peaks.html

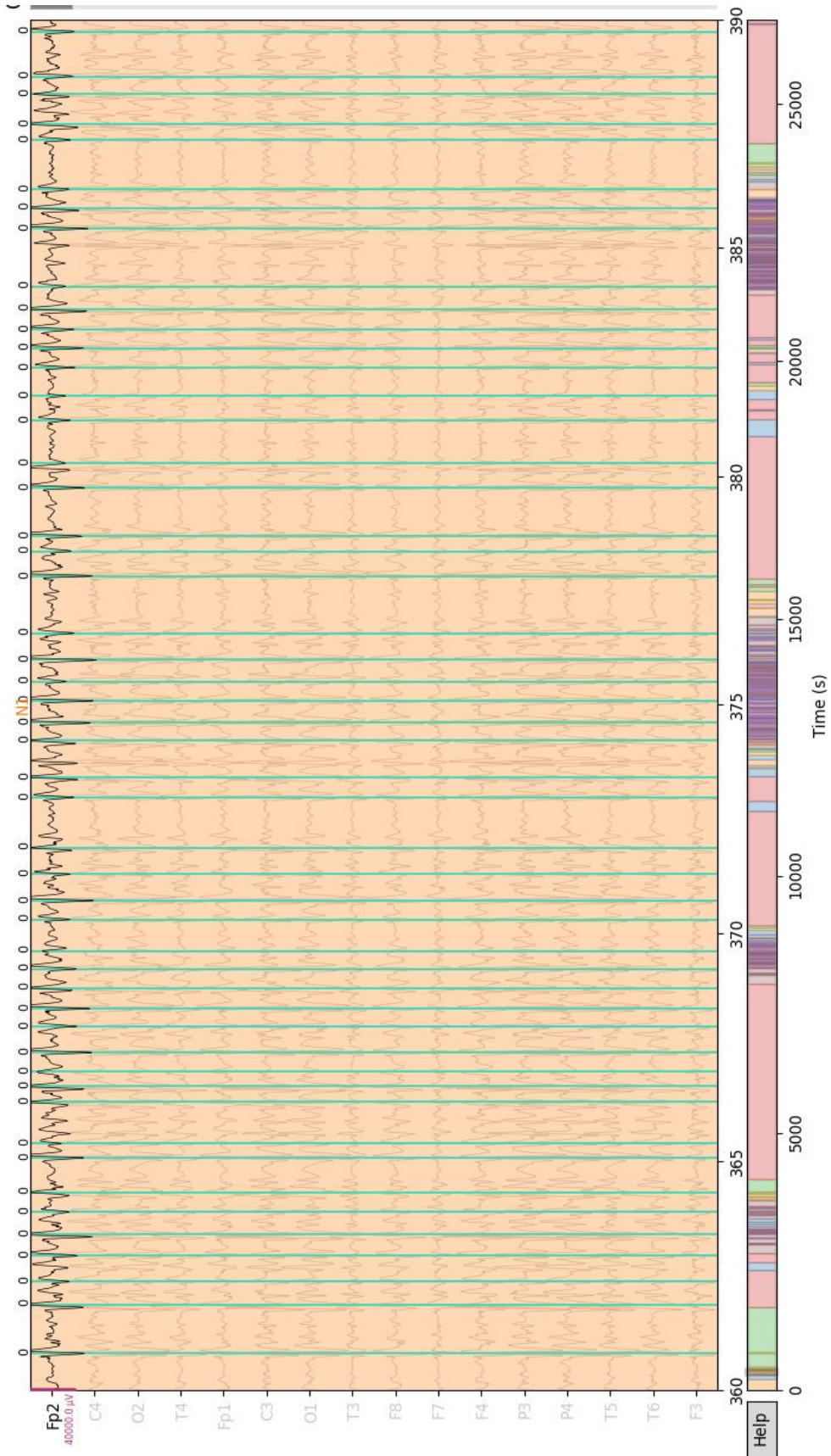


Figure 3.4 Applicazione della funzione “find_peaks” per la detezione degli spikes sul singolo canale EEG (in questo caso esemplificativo, nel canale Fp2)

4 RISULTATI

4.1 DATI CLINICI DEI PAZIENTI

I 5 pazienti esaminati, 3 maschi e 2 femmine, presentano un'età compresa fra i 5 ed i 10 anni, con un'età media pari a 7.13 anni (SD = 2.4); di questi, uno soddisfa i criteri di diagnosi per la sindrome di Landau – Kleffner, due per l'epilessia rolandica, mentre i restanti due pazienti presentano un quadro di encefalopatia epilettica ancora in corso di definizione diagnostica. Solo un paziente presenta una familiarità nota per epilessia (cugina di II grado con epilessia non altrimenti specificata).

Tali pazienti sono stati sottoposti a risonanza magnetica cerebrale, risultata nella norma in 2 casi e alterata nei restanti 3, come riportato nella **Table 4.1**.

Paziente	RMN encefalo
AD	Nella norma
SM	Nella norma
RM	Piccolo nodulo di eterotopia della sostanza grigia a livello periventricolare frontale sn
AR	Esiti di trombosi venosa con secondario infarcimento emorragico bilaterale talamico, aree di involuzione malacico - cavitaria, sistema ventricolare ridotto con coaguli ematici.
IEY	Esiti stabilizzati di encefalopatia ipossico - ischemica.

Table 4.1

Tutti i pazienti esaminati presentano un grado variabile di ritardo di sviluppo psicomotorio e anomalie comportamentali in forma di deficit attentivi, iperattività, comportamento oppositivo, labilità emotiva, ecc. L'esame neurologico risulta nella norma in 3 pazienti, mentre nei restanti 2 evidenzia anomalie quali stereotipie, difficoltà di coordinazione motoria, instabilità della marcia, tremori, ipertono agli AAI, diplegia spastica.

I pazienti per i quali siano disponibili i dati riguardanti la valutazione cognitiva e neuropsicologica presentano inoltre un grado variabile di compromissione cognitiva ed infatti in nessun bambino si rileva un Q.I. nella norma (per 2 dei 5 pazienti dello studio, tali dati non sono tuttavia disponibili).

L'età media di esordio delle crisi epilettiche è pari a 3.00 anni (SD = 2.34) e la tipologia e frequenza delle crisi epilettiche sperimentate dai pazienti è riassunta in **Table 4.2**.

Paziente	FS (si/no)	Tipo di crisi	Frequenza delle crisi
AD	no	Assenze atipiche senza caduta	10 - 20/die
SM	si	Mioclonie focali all'AS dx e all'emivolto dx	1 - 2/mese
RM	si	Crisi focali a secondaria generalizzazione tonico - clonica	Sporadica
AR	no	Crisi generalizzate tonico - cloniche	Episodi convulsivi in quarta giornata di vita
IEY	no	Crisi generalizzate (perdita di coscienza, ipertono, deviazione dei globi oculari e della rima orale a destra e scosse cloniche all'emilato destro)	Sporadica

Table 4.2 Tipologia e frequenza delle crisi epilettiche sperimentate dai pazienti.
FS: Focal Seizures

Tutti i pazienti sono attualmente in trattamento farmacologico (vedere **Table 4.3**).

Paziente	Terapia
AD	VPA, Deltacortene
SM	CBZ, VPA, DZP
RM	VPA
AR	ESM, VPA, CZP
IEY	VPA, CBZ, LEV

Table 4.3 terapia farmacologica in atto.

VPA: Valproato; CBZ: Clobazam;
DZP: Diazepam;
ESM: Etosuccimide; CZP: Clonazepam;
LEV: Levetiracetam

4.2 CANALI ANALIZZATI E PERIODO DI TEMPO INDAGATO

Per la registrazione e l'analisi EEG sono stati posizionati e analizzati 16 elettrodi per ciascun paziente.

I periodi di tempo indagati sono i seguenti:

- Tempo di sonno totale: 155166,4 secondi, di cui:
 - ❖ Sonno NREM: 119566,7 secondi
 - ❖ Sonno REM: 35599,76 secondi
 - ❖ REM fasico: 11354,45 secondi (31,90 % del totale del REM)
 - ❖ REM tonico: 24245,32 secondi (68,10 % del totale del REM)

Il numero totale di fasi NREM analizzate è 31 (media per paziente: 6,2), con una durata media di 3856,99 secondi; il numero totale di fasi REM analizzate è 28 (media per paziente: 5,6), con una durata media di 1227,58 secondi; la durata media delle fasi di REM fasico è di 405,52 sec, mentre la durata media delle fasi di REM tonico è di 865,90 sec.

Il REM fasico costituisce complessivamente il 31,90% del totale del REM, mentre il REM tonico ne costituisce il restante 68,10%.

4.3 CONTA DEGLI SPIKES E CALCOLO DELL'ED INDEX

Per ogni paziente abbiamo analizzato l'andamento dei valori di ED index nelle varie fasi del sonno (N 1 – 3, REM fasico, REM tonico) ed abbiamo analizzato la distribuzione topografica degli spikes e le variazioni di ED index nelle varie regioni encefaliche.

Il numero totale degli spikes identificati nei canali EEG è 2205146, di cui 2011067 in sonno NREM (media: 64873,12), 160467 in sonno REM tonico (media: 5730,96) e 33612 in REM fasico (media 1200,42).

Il valore medio di ED index calcolato durante le diverse fasi di sonno è di 0.94 (\pm 0.08) negli stadi N1 – 2; 1.13 (\pm 0.24) nello stadio N3; 0.23 (\pm 0.21) nel REM fasico; 0.47 (\pm 0.40) nel REM tonico.

I dati raccolti per ciascun paziente sono riportati in **Table 4.4**.

Paziente	Ed index \pm DS			
	N12	N3	REM fasico	REM tonico
AD	1.053 \pm 0.06	1.094 \pm 0.09	0.001 \pm 0.001	0.077 \pm 0.01
SM	0.884 \pm 0.075	0.85 \pm 0.086	0.43 \pm 0.103	1.027 \pm 0.065
RM	0.979 \pm 0.033	1.009 \pm 0.048	0,298 \pm 0.064	0.478 \pm 0.066
AR	0,896 \pm 0.061	1.488 \pm 0.032	0.02 \pm 0.007	0.11 \pm 0.031
IEY	0,874 \pm 0.037	1.215 \pm 0.053	0.4 \pm 0.057	0.672 \pm 0.069
MEAN	0.937 \pm 0.077	1.131 \pm 0.240	0.230 \pm 0.206	0.472 \pm 0.398

Table 4.4 Valore medio (\pm DS) di ED index di ciascun paziente in ogni fase del sonno (media dell'ED index calcolato nei vari canali EEG, nell'arco di tutta la notte).

Per ciascun paziente, abbiamo ricavato il numero di spikes e il valore di ED index in ognuno dei 16 canali EEG, ottenendo i seguenti risultati (**Table 4.6; Table 4.; Table 4.7; Table 4.; Table 4.8**).

	Spike count					ED index			
	N1	N2	N3	P_REM	T_REM	N12	N3	P_REM	T_REM
Fp1	1045	2699	14435	3	254	0,975	1,002431	0,001215	0,06447
C3	1221	3013	16659	1	340	1,102604	1,156875	0,000405	0,086298
O1	1079	2779	14460	3	303	1,004688	1,004167	0,001215	0,076907
T3	1311	3090	17734	5	372	1,146094	1,231528	0,002025	0,09442
F7	1256	3017	17321	8	351	1,11276	1,202847	0,00324	0,08909
P3	1141	2828	15104	3	318	1,033594	1,048889	0,001215	0,080714
T5	1119	2812	14916	5	341	1,023698	1,035833	0,002025	0,086552
F3	1324	3221	18713	8	376	1,183594	1,299514	0,00324	0,095436
Fp2	1012	2614	13668	3	262	0,944271	0,949167	0,001215	0,0665
C4	1154	2934	15938	1	291	1,064583	1,106806	0,000405	0,073861
O2	1128	2852	15231	2	302	1,036458	1,057708	0,00081	0,076653
T4	1143	2843	15787	0	275	1,038021	1,096319	0	0,0698
F8	1106	2742	14511	2	259	1,002083	1,007708	0,00081	0,065739
F4	1198	2915	16151	1	267	1,071094	1,121597	0,000405	0,067769
P4	1150	2888	15597	1	284	1,051563	1,083125	0,000405	0,072084
T6	1153	2934	15934	1	285	1,064323	1,106528	0,000405	0,072338

Table 4.6 Paziente AD

	Spike count					ED index			
	N1	N2	N3	P_REM	T_REM	N12	N3	P_REM	T_REM
Fp1	1433	11447	22937	556	3710	0,905767	1,309189	0,372886	0,68212
C3	1279	10667	19941	570	3463	0,840084	1,138185	0,382275	0,636706
O1	1274	11013	21323	587	3552	0,864065	1,217066	0,393676	0,65307
T3	1215	10169	20396	417	2865	0,800563	1,164155	0,279664	0,526758
F7	1272	10840	21750	468	3139	0,851758	1,241438	0,313868	0,577136
P3	1255	10607	19738	636	3509	0,834177	1,126598	0,426538	0,645164
T5	1232	10284	20677	452	3027	0,809845	1,180194	0,303137	0,556544
F3	1323	11032	21032	603	3574	0,868847	1,200457	0,404407	0,657115
Fp2	1515	11646	22891	632	4036	0,925527	1,306564	0,423856	0,742058
C4	1456	11340	20623	711	4136	0,899859	1,177112	0,476838	0,760444
O2	1326	11571	21939	663	3877	0,906962	1,252226	0,444646	0,712824
T4	1424	10940	21456	599	3702	0,86948	1,224658	0,401724	0,680649
F8	1505	11345	22116	627	3928	0,903657	1,262329	0,420503	0,722201
F4	1537	11524	21350	703	4127	0,918495	1,218607	0,471473	0,758789
P4	1396	11350	20479	708	4028	0,896343	1,168893	0,474826	0,740587
T6	1336	11255	22071	610	3766	0,885443	1,25976	0,409101	0,692416

Table 4.7 Paziente IEY

	Spike count					ED index			
	N1	N2	N3	T_REM	P_REM	N12	N3	P_REM	T_REM
Fp1	2166	8700	10409	3809	872	0,978919	0,953827	0,613434	1,145487
C3	1875	6978	8086	3268	474	0,797568	0,740959	0,333449	0,982792
O1	1902	7183	8445	3128	447	0,818468	0,773856	0,314455	0,940689
T3	1865	6941	8204	3183	444	0,793333	0,751772	0,312345	0,957229
F7	1913	7233	8513	3354	575	0,823964	0,780087	0,404501	1,008654
P3	1868	7037	8257	3240	453	0,802252	0,756629	0,318676	0,974371
T5	1866	7042	8335	3177	424	0,802523	0,763776	0,298275	0,955425
F3	1954	7435	8667	3469	606	0,845856	0,794199	0,426308	1,043239
Fp2	2083	8347	10146	3490	760	0,93964	0,929727	0,534644	1,049554
C4	2133	8479	9967	3639	758	0,956036	0,913324	0,533237	1,094363
O2	1933	7565	9081	3180	504	0,855676	0,832136	0,354554	0,956327
T4	2104	8441	10082	3518	643	0,95	0,923862	0,452337	1,057974
F8	2038	7896	9526	3326	591	0,894955	0,872913	0,415756	1,000234
F4	2243	8860	10451	3805	851	1,00027	0,957675	0,598661	1,144285
P4	2006	7778	9194	3415	606	0,881441	0,84249	0,426308	1,026999
T6	2144	9051	11120	3645	767	1,008559	1,018979	0,539569	1,096167

Table 4.7 Paziente SM

	Spike count					ED index			
	N1	N2	N3	P_REM	T_REM	N12	N3	P_REM	T_REM
Fp1	3153	11494	10840	1114	2281	1,02355	1,06588	0,40174	0,60432
C3	2714	10574	9491	707	1624	0,928581	0,933235	0,254964	0,430257
O1	2858	11567	10397	662	1590	1,008036	1,022321	0,238736	0,421249
T3	2885	10691	9669	653	1685	0,948707	0,950737	0,23549	0,446418
F7	3066	11089	10201	819	1927	0,989168	1,003048	0,295355	0,510532
P3	2745	10772	9663	663	1553	0,944584	0,950147	0,239097	0,411446
T5	2868	11228	10000	687	1671	0,985045	0,983284	0,247752	0,442709
F3	2838	10693	9738	840	1893	0,945563	0,957522	0,302928	0,501525
Fp2	3155	11565	11142	1215	2397	1,028651	1,095575	0,438163	0,635053
C4	2697	10723	9959	850	1694	0,937806	0,979253	0,306534	0,448802
O2	2857	11788	10706	649	1637	1,02341	1,052704	0,234048	0,433701
T4	2836	11308	10499	829	1714	0,9884	1,03235	0,298961	0,454101
F8	3013	11433	10907	1058	2069	1,009504	1,072468	0,381545	0,548153
F4	2853	10744	10146	1035	1915	0,950175	0,99764	0,37325	0,507353
P4	2649	11105	10047	704	1558	0,961146	0,987906	0,253882	0,412771
T6	2733	11550	10783	718	1651	0,998113	1,060275	0,258931	0,43741

Table 4.9 Paziente RM

	Spike count					ED index			
	N1	N2	N3	P_REM	T_REM	N12	N3	P_REM	T_REM
Fp1	847	7522	20608	54	798	0,889035	1,506433	0,016879	0,102742
C3	1054	7973	20808	88	1098	0,958934	1,521053	0,027506	0,141366
O1	887	7479	20039	52	788	0,888716	1,464839	0,016254	0,101454
T3	1171	8238	20952	112	1311	0,999513	1,531579	0,035008	0,16879
F7	1107	8192	21258	91	1218	0,987828	1,553947	0,028444	0,156816
P3	980	7776	20459	67	962	0,930145	1,495541	0,020942	0,123856
T5	1027	7808	20385	73	1047	0,938538	1,490132	0,022818	0,1348
F3	1120	7996	21015	110	1150	0,968388	1,536184	0,034383	0,148061
Fp2	619	6773	19699	48	513	0,785248	1,439985	0,015003	0,066048
C4	880	7416	20256	59	783	0,88128	1,480702	0,018442	0,10081
O2	793	7242	19840	36	664	0,853554	1,450292	0,011253	0,085489
T4	814	7232	20167	44	682	0,854723	1,474196	0,013753	0,087807
F8	725	6917	20077	47	566	0,811806	1,467617	0,014691	0,072872
F4	844	7302	20172	79	723	0,865346	1,474561	0,024693	0,093085
P4	853	7438	20137	47	753	0,880749	1,472003	0,014691	0,096948
T6	761	7133	19895	38	587	0,838576	1,454313	0,011878	0,075576

Table 4.8 Paziente AR

Visto il ristretto numero di pazienti, non è stata effettuata un'analisi statistica dei risultati. L'analisi dei dati ora riportati si è poi maggiormente concentrata su due aspetti principali:

- Valutazione dell'ED index medio vigente nell'intero contesto dell'encefalo, nei vari stadi del sonno, con di valutare il diverso grado di soppressione epilettica operato dai due microstati REM fasico e REM tonico;
- Distribuzione topografica degli spikes nelle varie fasi del sonno ed individuazione di eventuali differenze nella variazione dell'ED index nei vari canali EEG.

Per rendere più chiara ed intuitiva l'interpretazione dei dati abbiamo elaborato una serie di grafici qui di seguito riportati: gli istogrammi elaborati per ciascun paziente e dallo scatter plot riassuntivo di tutti i soggetti mettono bene in evidenza, come atteso, una diminuzione dell'ED index nel microstato REM fasico, rispetto al REM tonico (**Figure 4.1; Figure 4.2**).

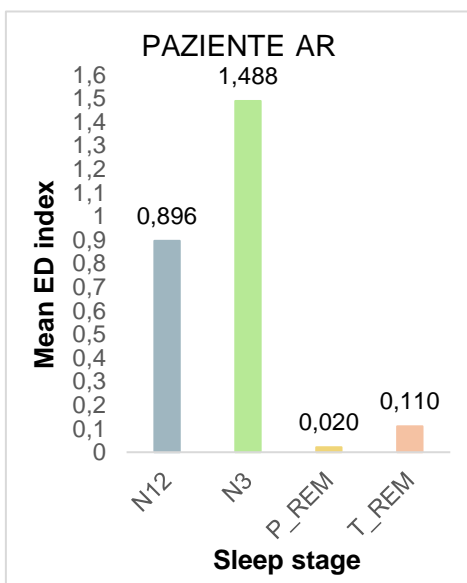
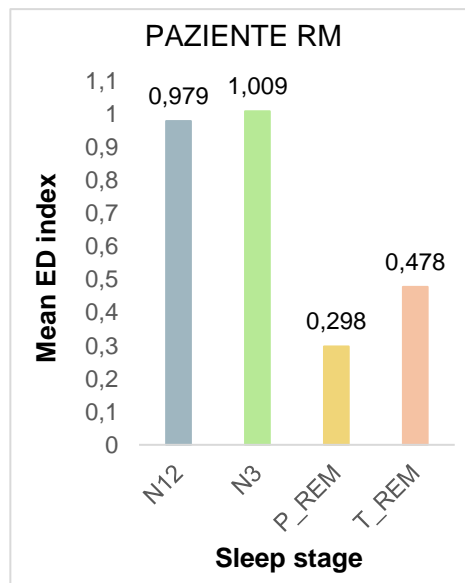
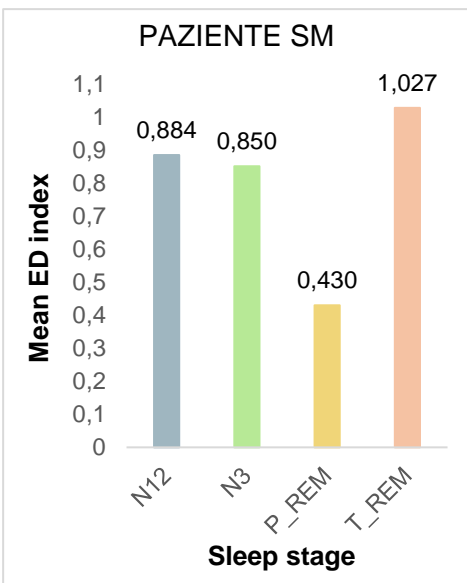
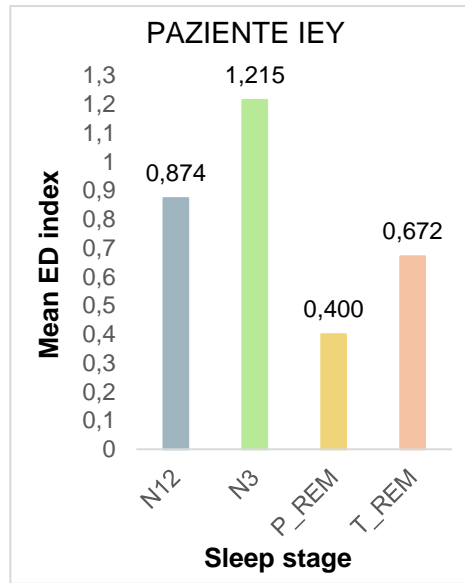
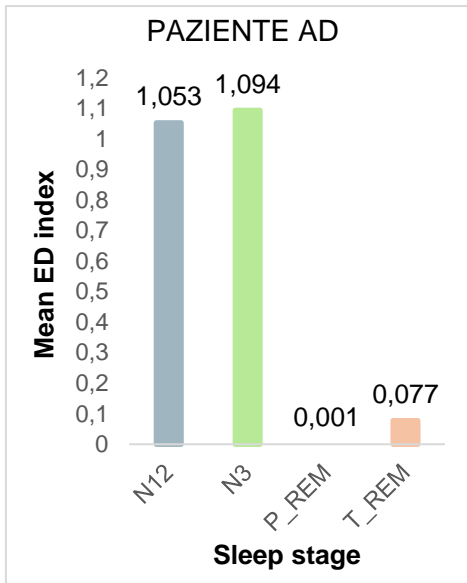


Figure 4.1 I cinque grafici mostrano, per ciascun paziente, l'andamento del valore medio di ED index nei vari stadi del sonno. P_REM: REM fascio; T_REM: REM tonico.

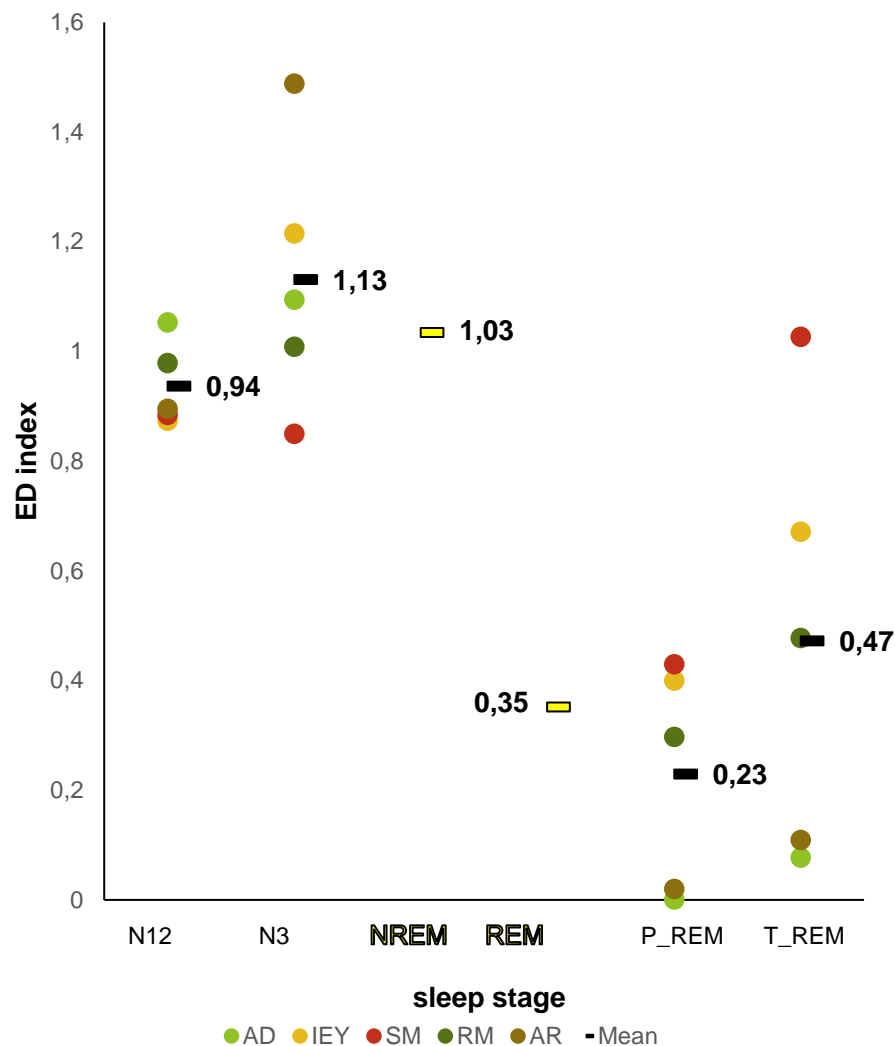
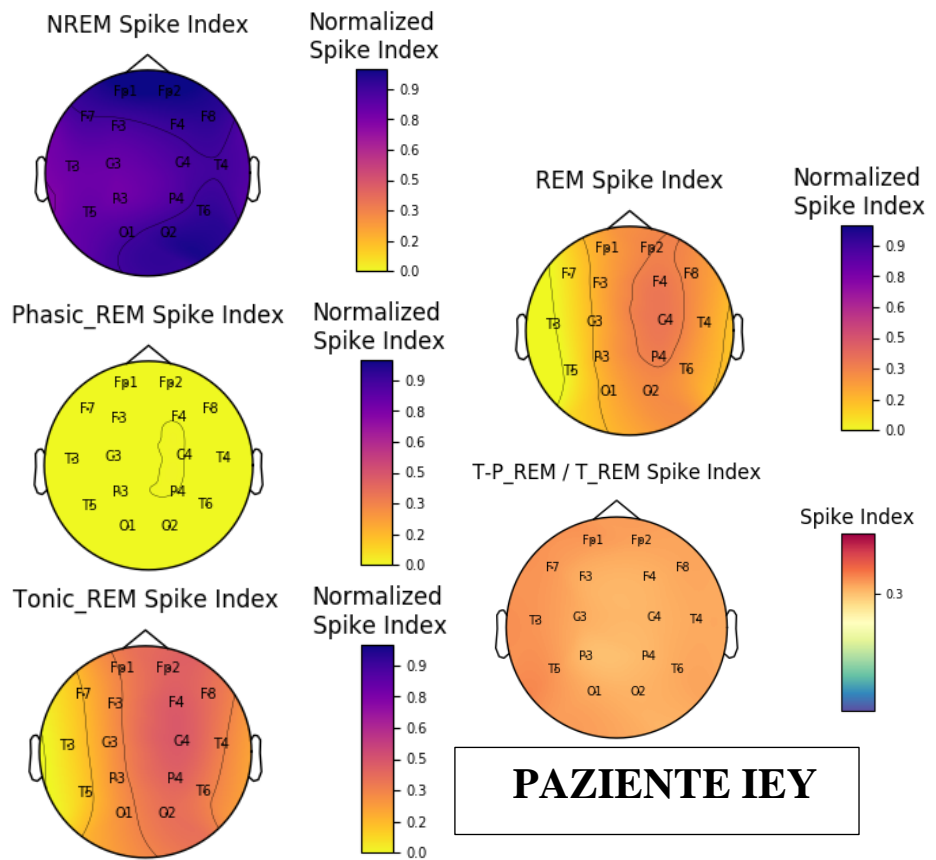
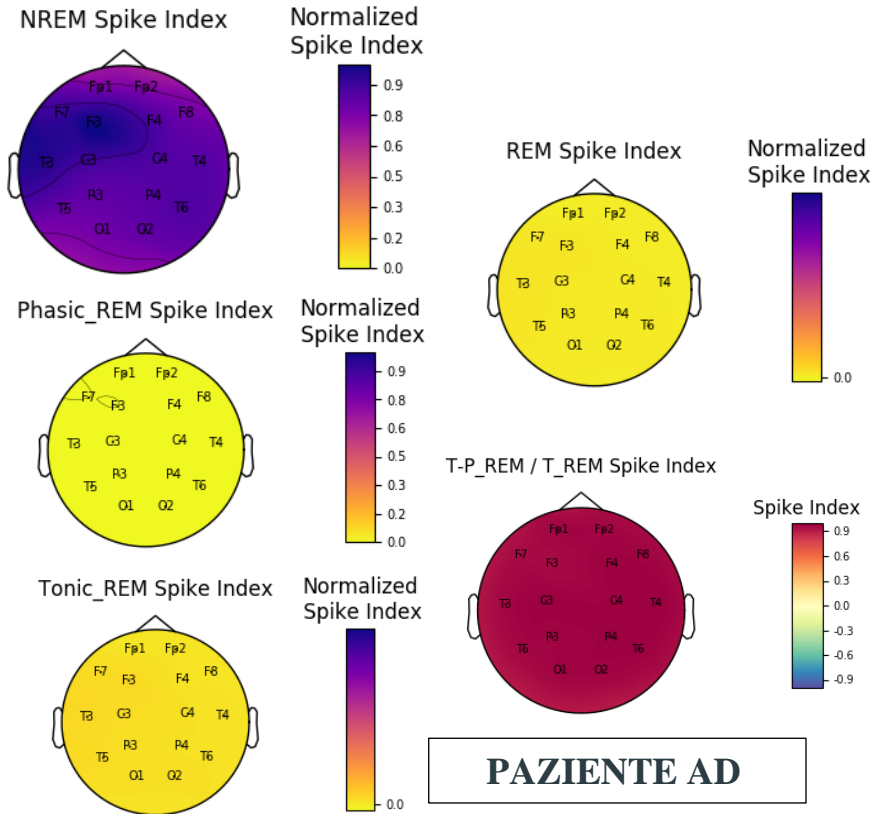
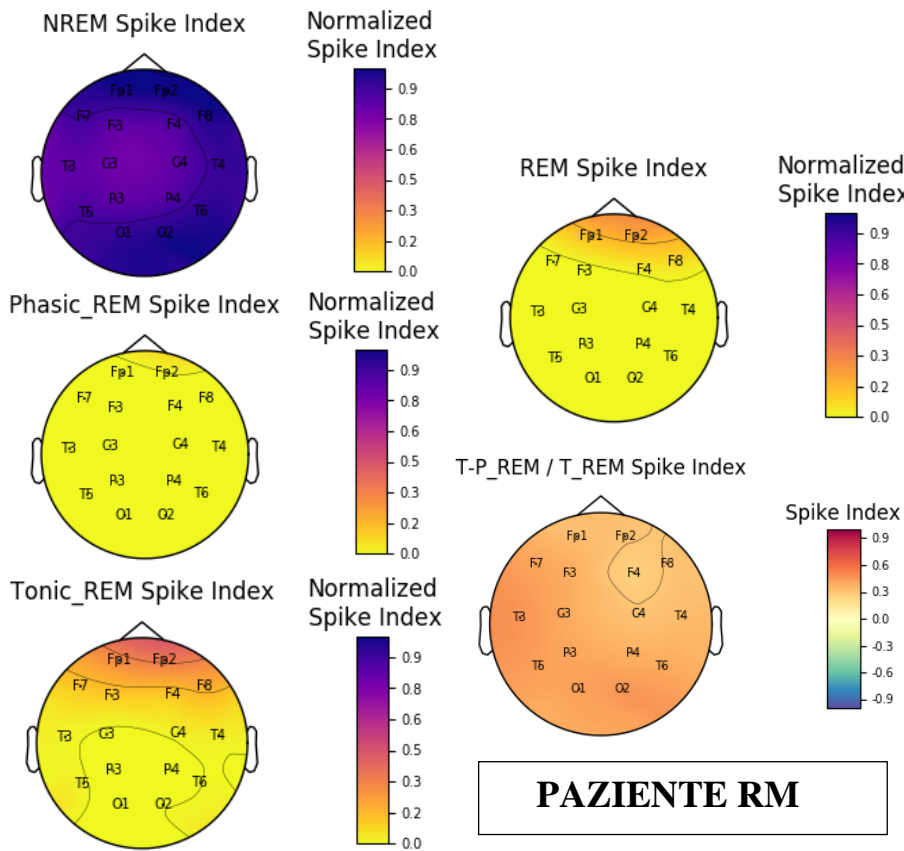
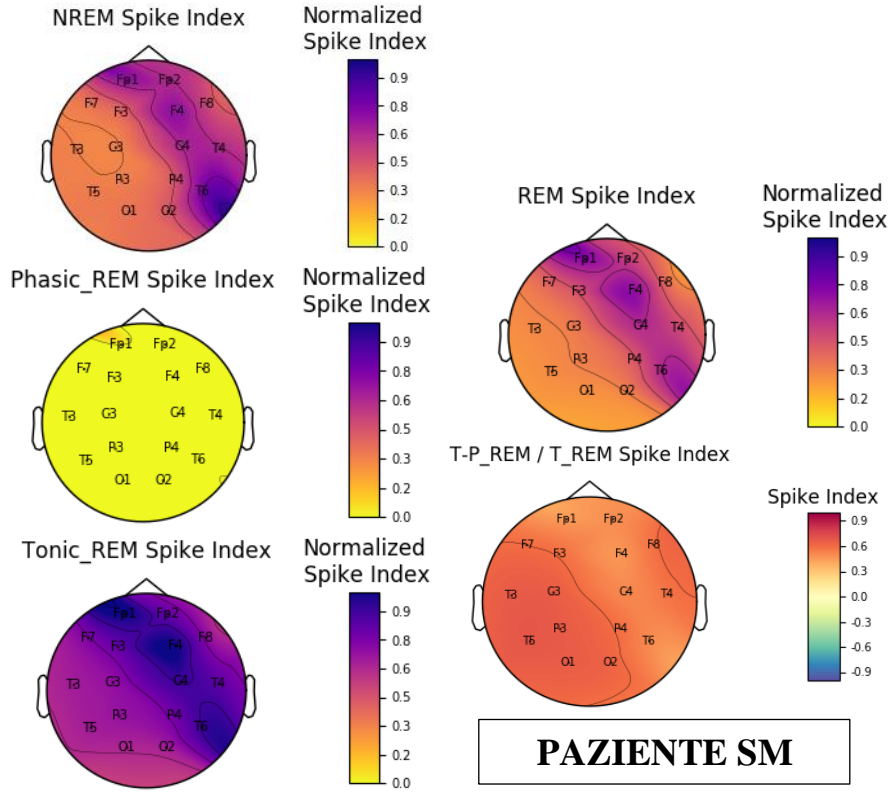


Figure 4.2 Questo “scatter plot” raggruppa i dati relativi a tutti i 5 pazienti e mette bene in luce l’effetto soppressivo operato dal sonno REM, ed in particolare dal REM fasico (P_REM), sulle anomalie epilettiformi.

Per quanto riguarda l’analisi della distribuzione topografica degli spikes nelle varie fasi del sonno, abbiamo elaborato per ciascun paziente delle topografie, con l’intento di individuare eventuali differenze nella variazione dell’ED index nei vari canali EEG (Figure 4.3 topografie dei 5 pazienti dello studio (**Figure 4.3**).





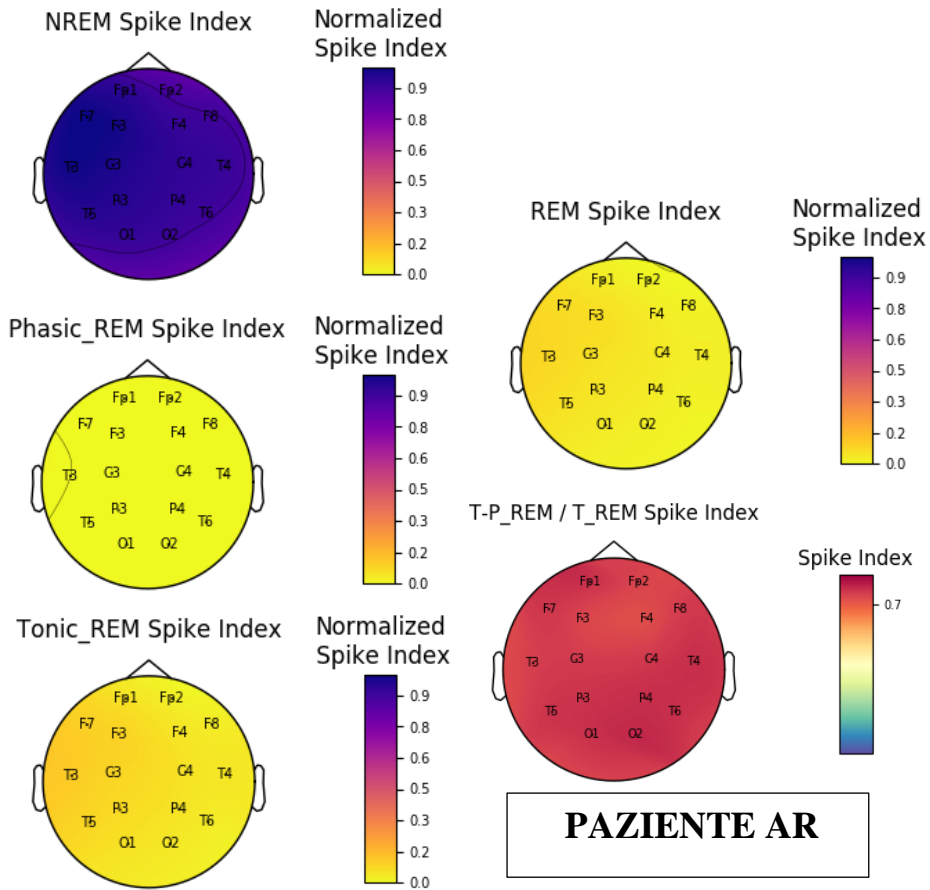


Figure 4.3 topografie dei 5 pazienti dello studio

I risultati e le topografie evidenziano, in tutti i pazienti, uno valore di ED index più elevato in NREM: in alcuni pazienti tale fenomeno è diffuso a tutto l'encefalo, mentre in altri alcune aree risultano più attive delle circostanti. Durante il sonno REM fasico l'ED index è uniformemente diminuito, mentre nel REM tonico, analogamente a quanto accade durante il NREM, alcune aree sono più attive di altre.

5 DISCUSSIONE

Attraverso registrazioni polisunnografiche, ci siamo posti l'obiettivo di studiare gli effetti dei microstati REM fasico e REM tonico sull'attivazione epilettica, in pazienti affetti da ESES: sebbene il ristretto numero di pazienti non abbia consentito l'effettuazione di un'analisi statistica, i nostri risultati sembrano chiaramente evidenziare che il sonno REM fasico esercita sugli spikes un effetto soppressivo maggiore rispetto al REM tonico.

Già altri studi si erano recentemente soffermati su tali aspetti, indagando la relazione fra il sonno REM tonico e fasico e l'attività epilettica, nel contesto di alcune forme di epilessia focale (46,48,145); l'aspetto interessante del nostro studio è quello di aver esteso i risultati già esistenti ad una condizione come l'ESES, che rappresenta la massima espressione ed il grado più estremo di attivazione epilettica durante il sonno. Il nostro studio è quindi concorde con l'ipotesi che il sonno REM abbia un effetto protettivo nei confronti dell'attività epilettica (40,41); inoltre, avvalorata la tesi, più recente, per cui il sonno REM non sarebbe uno stadio omogeneo e che sarebbe in particolare il microstato fasico a svolgere l'azione di soppressione degli spikes (25,46,48,145). Al contrario, il tasso di attivazione epilettica durante il sonno REM tonico non sembra differire molto da quello osservato in sonno NREM; addirittura, in uno dei cinque pazienti (**Figure 4.1**), il valore medio di ED index in fase di REM tonico è risultato maggiore di quello ottenuto in sonno NREM. Questo dato è piuttosto sorprendente, se si considera che, alla base dell'attivazione epilettica durante il sonno ad onde lente, vi sarebbe un'alterazione delle fisiologiche oscillazioni del sistema corticotalamico responsabili della genesi dei fusi del sonno (40–42): non a caso, vi è una correlazione diretta fra l'andamento dei fusi stessi e la distribuzione degli spikes durante il sonno NREM, come discusso nei capitoli precedenti (26,29).

Dati simili erano già stati ottenuti da Campana *et al.* (48) e suggeriscono che altri meccanismi siano implicati nella relazione fra sonno ed attività epilettica: sono quindi necessarie ulteriori indagini, volte ad approfondire e svelare tali aspetti.

Per quanto riguarda la distribuzione topografica degli spikes, i nostri risultati suggeriscono che l'effetto soppressivo del sonno REM fasico sia da essa indipendente: dalle immagini topografiche risulta infatti evidente che in tale fase del sonno l'ED index è uniformemente diminuito; tale dato è in accordo con i risultati ottenuti da Campana *et al.*, i quali dimostrano una riduzione del rate degli spikes sia a livello del focus epilettogeno, sia nella zona di diffusione degli spikes (48). Secondo i nostri risultati, lo stesso non si può invece dire per il NREM e per il REM tonico, durante il quale alcune aree cerebrali mantengono una maggior attivazione epilettica rispetto alle circostanti (vedere **Figure 4.3**).

6 CONCLUSIONI

L'esiguo numero di pazienti dello studio è dovuto ad una serie di criticità riscontrate nel reclutamento degli stessi:

- l'ESES è una condizione rara, per quanto sottostimata;
- l'indagine polisonnografica cui sono stati sottoposti i pazienti non viene eseguita routinariamente né in tutti i centri di riferimento;
- molti pazienti non hanno collaborato all'effettuazione dell'esame.

Ciononostante, le nostre osservazioni ed i risultati da noi ottenuti sono in accordo sia con la teoria che il sonno REM abbia un'azione protettiva verso l'attività epilettica, sia con i più recenti risultati, i quali dimostrano che l'attività epilettica è ridotta in particolare dal REM fasico, come risultato di una maggior desincronizzazione elettrica caratterizzante tale microstato (45,48). Tuttavia, considerato il ristretto pool di pazienti su cui è stato effettuato lo studio, riteniamo opportuno estendere l'indagine ad ulteriori soggetti, per rendere i risultati più affidabili e permettere l'effettuazione di un'analisi statistica.

Questo studio, insieme ai precedenti, è di fondamentale importanza per confermare l'effetto protettivo del sonno REM fasico sull'attività epilettica: riteniamo che, a partire dai nostri risultati, possa essere molto importante approfondire e comprendere maggiormente i meccanismi neurofisiopatologici alla base di tale fenomeno; questo potrebbe, in futuro, permettere la formulazione di nuovi farmaci antiepilettici o l'attuazione di nuove strategie terapeutiche. Un'opzione molto interessante potrebbe essere rappresentata dalla Stimolazione Cerebrale Profonda (Deep Brain Stimulation – DBS) del nucleo peduncolo – pontino che, come visto nel capitolo **Aspetti elettrofisiologici del sonno**

, costituisce uno dei principali nuclei REM – on: ad oggi, i principali studi in merito sono stati condotti su pazienti affetti da malattia di Parkinson ed hanno dimostrato che tale stimolazione potrebbe modulare selettivamente il sonno, in particolare il REM (146,147).

A partenza dai nostri dati, un altro aspetto da valutare e ricercare potrebbe essere l'eventuale relazione fra l'azione soppressiva del sonno REM fasico ed il substrato eziopatogenetico della patologia, con riferimento ad eventuali eziologie strutturali e/o genetiche: lo studio condotto da Campana *et al.* in casi epilessia focale associata a due diversi substrati istopatologici (sclerosi ippocampale e displasia corticale focale di tipo II) non hanno identificato alcuna correlazione fra l'effetto soppressivo del REM fasico ed il substrato istopatologico stesso (48). Potrebbe essere interessante estendere tali indagini anche ai casi di ESES “sintomatici” o a quelli legati a mutazione di GRIN2A.

Infine, anche l'aspetto topografico è meritevole di ulteriori approfondimenti: valutare eventuali differenze esistenti fra la zona del focus epilettogeno e le circostanti aree di diffusione degli spikes potrebbe fornire ulteriori informazioni sui meccanismi di soppressione epilettica.

In conclusione, i nostri dati evidenziano una discrepanza nell'influenza che gli stadi di REM fasico e tonico esercitano sull'attivazione epilettica; crediamo che queste differenze possano essere espressione di una disomogeneità del sonno REM e di un diverso livello di sincronizzazione sotteso dai due microstati.

7 BIBLIOGRAFIA

1. Dudley SD, Hans OL. Electrical Status Epilepticus of Sleep. In: *Epilepsy and Sleep Physiological and Clinical Relationships*. Academic Press, London; 2001. pag. 12.
2. World Health Organization W. Epilepsy [Internet]. [citato 27 giugno 2020]. Available at: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/epilepsy>
3. Orsini A, Zara F, Striano P. Recent advances in epilepsy genetics. *Neurosci Lett*. 2018;667:4–9.
4. Hildebrand MS, Dahl H-HM, Damiano JA, Smith RJH, Scheffer IE, Berkovic SF. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *J Med Genet*. maggio 2013;50(5):271–9.
5. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. agosto 1981;22(4):489–501.
6. Proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. giugno 1985;26(3):268–78.
7. Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes.: Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. agosto 1989;30(4):389–99.
8. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position

- Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522–30.
9. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Research*. gennaio 2018;139:73–9.
 10. Fisher RS, Boas W van E, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005;46(4):470–2.
 11. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475–82.
 12. Huff JS, Murr N. Seizure. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citato 26 giugno 2020]. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430765/>
 13. Hauser WA, Anderson VE, Loewenson RB, McRoberts SM. Seizure recurrence after a first unprovoked seizure. *N Engl J Med*. 26 agosto 1982;307(9):522–8.
 14. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512–21.
 15. Wyllie E, Gupta A, Lachhwani DK, curatori. *The treatment of epilepsy: principles & practice*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 1247 pag.

16. Holmes GL, Ben-Ari Y. Seizing hold of seizures. *Nat Med.* agosto 2003;9(8):994–6.
17. Scammell TE, Arrigoni E, Lipton J. Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep. *Neuron.* 22 febbraio 2017;93(4):747–65.
18. Borbély AA, Achermann P. Chapter 33 - Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, curatori. *Principles and Practice of Sleep Medicine (Fourth Edition)* [Internet]. Philadelphia: W.B. Saunders; 2005 [citato 24 marzo 2020]. pag. 405–17. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0721607977500409>
19. Borbély A. Sleep: circadian rhythm versus recovery process. *Functional states of the brain: Their determinants.* 1980;151–61.
20. Borbély AA. From slow waves to sleep homeostasis: new perspectives. *Arch Ital Biol.* febbraio 2001;139(1–2):53–61.
21. Borbély EA, Achermann P. *JOURNAL OF BIOLOGICAL RHYTHMS* / December 1999Borbély, Achermann / *SLEEP HOMEOSTASIS* Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation.
22. Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL, Quan SF. *The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications.* Vol. 1. American Academy of Sleep Medicine Westchester, IL; 2007.
23. Moser D, Anderer P, Gruber G, Parapatics S, Loretz E, Boeck M, et al. Sleep Classification According to AASM and Rechtschaffen & Kales: Effects on Sleep Scoring Parameters. *Sleep.* 1 febbraio 2009;32(2):139–49.

24. Tatum WO. Handbook of EEG interpretation [Internet]. New York [N.Y.: Demos Medical Pub.; 2013 [citato 29 giugno 2020]. Available at: <http://www.credoreference.com/book/spheegi>
25. Simor P, van der Wijk G, Nobili L, Peigneux P. The microstructure of REM sleep: Why phasic and tonic? *Sleep Med Rev.* 19 marzo 2020;52:101305.
26. Nobili L, Baglietto MG, Beelke M, De Carli F, De Negri E, Gaggero R, et al. Distribution of epileptiform discharges during nREM sleep in the CSWSS syndrome: relationship with sigma and delta activities. *Epilepsy Research.* 1 maggio 2001;44(2):119–28.
27. De Gennaro L, Ferrara M. Sleep spindles: an overview. *Sleep Med Rev.* ottobre 2003;7(5):423–40.
28. The Neuronal Transition Probability (NTP) Model for the Dynamic Progression of Non-REM Sleep EEG: The Role of the Suprachiasmatic Nucleus. *PLOS ONE.* 19 agosto 2011;6(8):e23593.
29. Nobili L, Ferrillo F, Baglietto MG, Beelke M, De Carli F, De Negri E, et al. Relationship of sleep interictal epileptiform discharges to sigma activity (12–16 Hz) in benign epilepsy of childhood with rolandic spikes. *Clinical Neurophysiology.* 1 gennaio 1999;110(1):39–46.
30. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science.* 29 ottobre 1993;262(5134):679–85.

31. Sánchez Fernández I, Loddenkemper T, Peters JM, Kothare SV. Electrical Status Epilepticus in Sleep: Clinical Presentation and Pathophysiology. *Pediatric Neurology*. dicembre 2012;47(6):390–410.
32. Siegel JM, Tomaszewski KS, Nienhuis R. Behavioral states in the chronic medullary and midpontine cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. marzo 1986;63(3):274–88.
33. Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB. A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature*. 1 giugno 2006;441(7093):589–94.
34. Baghdoyan HA, Rodrigo-Angulo ML, McCarley RW, Hobson JA. Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Research*. luglio 1984;306(1–2):39–52.
35. Luppi P-H, Gervasoni D, Verret L, Goutagny R, Peyron C, Salvert D, et al. Paradoxical (REM) sleep genesis: The switch from an aminergic–cholinergic to a GABAergic–glutamatergic hypothesis. *Journal of Physiology-Paris*. novembre 2006;100(5–6):271–83.
36. Fraigne JJ, Grace KP, Horner RL, Peever J. Mechanisms of REM sleep in health and disease: Current Opinion in Pulmonary Medicine. novembre 2014;20(6):527–32.
37. Brandman O, Ferrell JE, Li R, Meyer T. Interlinked fast and slow positive feedback loops drive reliable cell decisions. *Science*. 21 ottobre 2005;310(5747):496–8.
38. Bazil CW. Sleep and Epilepsy. *Semin Neurol*. 2017;37(4):407–12.

39. Shouse MN, Siegel JM, Wu MF, Szymusiak R, Morrison AR. Mechanisms of seizure suppression during rapid-eye-movement (REM) sleep in cats. *Brain Res.* 29 dicembre 1989;505(2):271–82.
40. Ferrillo F, Beelke M, Nobili L. Sleep EEG synchronization mechanisms and activation of interictal epileptic spikes. *Clinical Neurophysiology.* 1 settembre 2000;111:S65–73.
41. Shouse MN, Farber PR, Staba RJ. Physiological basis: how NREM sleep components can promote and REM sleep components can suppress seizure discharge propagation. *Clinical Neurophysiology.* 1 settembre 2000;111:S9–18.
42. Steriade M, Contreras D, Amzica F. Synchronized sleep oscillations and their paroxysmal developments. *Trends in Neurosciences.* 1 gennaio 1994;17(5):201–7.
43. Frauscher B, von Ellenrieder N, Ferrari-Marinho T, Avoli M, Dubeau F, Gotman J. Facilitation of epileptic activity during sleep is mediated by high amplitude slow waves. *Brain.* 1 giugno 2015;138(6):1629–41.
44. Jouvett M. Paradoxical Sleep — A Study of its Nature and Mechanisms**This work was carried out with the help of the United States Air Force under grant 62/67, (European Office of Aerospace Research), the Fonds de Développement de la Recherche Scientifique and the Direction Générale des Recherches et Moyens d'Essai. In: Akert K, Bally C, Schadé JP, curatori. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 1965 [citato 29 giugno 2020]. pag. 20–62. (Sleep Mechanisms; vol. 18). Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308635827>

45. Frauscher B, von Ellenrieder N, Dubeau F, Gotman J. EEG desynchronization during phasic REM sleep suppresses interictal epileptic activity in humans. *Epilepsia*. giugno 2016;57(6):879–88.
46. Clemens Z, Janszky J, Szucs A, Békésy M, Clemens B, Halász P. Interictal epileptic spiking during sleep and wakefulness in mesial temporal lobe epilepsy: a comparative study of scalp and foramen ovale electrodes. *Epilepsia*. febbraio 2003;44(2):186–92.
47. Salado IR, García APR, Aguilar MAC, Calvo JM. Inhibitory effect of state independent ponto-geniculo-occipital waves on seizure occurrence induced by local application of penicillin into the temporal lobe amygdala. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1 ottobre 2008;32(7):1688–97.
48. Campana C, Zubler F, Gibbs S, de Carli F, Proserpio P, Rubino A, et al. Suppression of interictal spikes during phasic rapid eye movement sleep: a quantitative stereo-electroencephalography study. *J Sleep Res*. ottobre 2017;26(5):606–13.
49. Tassinari CA, Daniele O, Gambarelli F, Bureau-Paillas M, Robaglia L, Cicirata F. Quantité excessive de 7–14 positive spikes pendant la P.M.O. chez deux jumeaux monozygotes avec retard du langage. *Revue d'Electroencéphalographie et de Neurophysiologie Clinique*. 1 aprile 1977;7(2):192–3.
50. Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. *Epilepsia*. 1989;30(4):389–99.
51. Baglietto MG, Battaglia FM, Mancardi MM, Parodi E, Prato G, Vari S, et al. Aspetti elettroclinici e neuropsicologici delle epilessie focali idiopatiche del bambino (BFCE) che evolvono in Stato di Male Elettrico in Sonno (ESES). :8.

52. Scheltens-de Boer M. Guidelines for EEG in encephalopathy related to ESES/CSWS in children. *Epilepsia*. agosto 2009;50:13–7.
53. Rossi PG, Parmeggiani A, Posar A, Scaduto MC, Chiodo S, Vatti G. Landau-Kleffner syndrome (LKS): long-term follow-up and links with electrical status epilepticus during sleep (ESES). *Brain Dev*. marzo 1999;21(2):90–8.
54. Saltik S, Uluduz D, Cokar O, Demirbilek V, Dervent A. A Clinical and EEG Study on Idiopathic Partial Epilepsies with Evolution into ESES Spectrum Disorders. *Epilepsia*. aprile 2005;46(4):524–33.
55. Nickels K, Wirrell E. Electrical Status Epilepticus in Sleep. *Seminars in Pediatric Neurology*. giugno 2008;15(2):50–60.
56. Smith MC, Hoepfner TJ. Epileptic Encephalopathy of Late Childhood: Landau-Kleffner Syndrome and the Syndrome of Continuous Spikes and Waves During Slow-Wave Sleep. *Journal of Clinical Neurophysiology*. novembre 2003;20(6):462–72.
57. Dugas M, Grenet P, Masson M, Mialet JP, Jaquet G. [Childhood aphasia with epilepsy. Remission with antiepileptic treatment]. *Rev Neurol (Paris)*. luglio 1976;132(7):489–93.
58. Galanopoulou AS, Bojko A, Lado F, Moshé SL. The spectrum of neuropsychiatric abnormalities associated with electrical status epilepticus in sleep. *Brain and Development*. 14 agosto 2000;22(5):279–95.

59. Loddenkemper T, Fernández IS, Peters JM. Continuous Spike and Waves During Sleep and Electrical Status Epilepticus in Sleep: *Journal of Clinical Neurophysiology*. aprile 2011;28(2):154–64.
60. Inutsuka M, Kobayashi K, Oka M, Hattori J, Ohtsuka Y. Treatment of epilepsy with electrical status epilepticus during slow sleep and its related disorders. *Brain and Development*. 1 giugno 2006;28(5):281–6.
61. Van Hirtum-Das M, Licht EA, Koh S, Wu JY, Donald Shields W, Sankar R. Children with ESES: Variability in the Syndrome. *Epilepsy Research*. 1 agosto 2006;70:248–58.
62. Bureau M. Outstanding cases of CSWS and LKS: analysis of the data sheets provided by the participants. In: *Continuous Spikes and Waves during Slow Sleep*, A Beaumanoir, M Bureau, T Deonna, L Mira, and C A Tassinari, eds. 1995b. pag. 213–6.
63. Caraballo RH, Bongiorno L, Cerssimo R, Semprino M, Espeche A, Fejerman N. Epileptic encephalopathy with continuous spikes and waves during sleep in children with shunted hydrocephalus: A study of nine cases. *Epilepsia* [Internet]. aprile 2008 [citato 3 marzo 2020]; Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1528-1167.2008.01608.x>
64. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook* [Internet]. [citato 14 aprile 2020]. Available at: <https://www.ilae.org/education/books-on-epilepsy/epilepsy-a-comprehensive-textbook>

65. Cavazzuti GB. Epidemiology of different types of epilepsy in school age children of Modena, Italy. *Epilepsia*. febbraio 1980;21(1):57–62.
66. Larsson K, Eeg-Olofsson O. A population based study of epilepsy in children from a Swedish county. *Eur J Paediatr Neurol*. maggio 2006;10(3):107–13.
67. Wirrell EC, Camfield PR, Gordon KE, Dooley JM, Camfield CS. Benign rolandic epilepsy: atypical features are very common. *J Child Neurol*. novembre 1995;10(6):455–8.
68. Tassinari CA, Rubboli G, Volpi L, Meletti S, d’Orsi G, Franca M, et al. Encephalopathy with electrical status epilepticus during slow sleep or ESES syndrome including the acquired aphasia. *Clinical Neurophysiology*. 1 settembre 2000;111:S94–102.
69. Aeby A, Poznanski N, Verheulpen D, Wetzburger C, Van Bogaert P. Levetiracetam Efficacy in Epileptic Syndromes with Continuous Spikes and Waves during Slow Sleep: Experience in 12 Cases. *Epilepsia*. dicembre 2005;46(12):1937–42.
70. Patry G, Lyagoubi S, Tassinari CA. Subclinical Electrical Status Epilepticus Induced by Sleep in Children: A Clinical and Electroencephalographic Study of Six Cases. *Arch Neurol*. 1 marzo 1971;24(3):242–52.
71. Tassinari CA, Cantalupo G, Della Bernardina B, Darra F, Bureau M, Cirelli C, et al. Encephalopathy related to status epilepticus during slow sleep (ESES) including Landau - Kleffner Syndrome. In: *Epileptic Syndromes in Infancy, Childhood and Adolescence*. Fifth edition. John Libbey Eurotext; 2012. pag. 255–75.

72. Mikati MA, Saab R, Fayad MN, Choueiri RN. Efficacy of intravenous immunoglobulin in Landau-Kleffner syndrome. *Pediatr Neurol.* aprile 2002;26(4):298–300.
73. Beaumanoir A. EEG Data. In: *Continuous Spikes and Waves during Slow Sleep*, A Beaumanoir, M Bureau, T Deonna, L Mira, and C A Tassinari, eds. London: John Libbey; 1995b. pag. 217–23.
74. Sánchez Fernández I, Chapman KE, Peters JM, Harini C, Rotenberg A, Loddenkemper T. Continuous Spikes and Waves during Sleep: Electroclinical Presentation and Suggestions for Management. *Epilepsy Research and Treatment.* 2013;2013:1–12.
75. Beaumanoir A. *Continuous Spikes and Waves During Slow Sleep*. John Libbey Eurotext; 1995. 280 pag.
76. Tassinari CA, Bureau M, Dravet C, Roger J, Daniele - Natalè O. Electrical status epilepticus during sleep in children (ESES). In: *Sleep and Epilepsy*. Academic Press, London; 1982. pag. 465–79.
77. Muzio MR, Cascella M, Al Khalili Y. Landau Kleffner Syndrome. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citato 7 aprile 2020]. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547745/>
78. Guerrini R, Genton P, Bureau M, Parmeggiani A, Salas-Puig X, Santucci M, et al. Multilobar polymicrogyria, intractable drop attack seizures, and sleep-related electrical status epilepticus. *Neurology.* 1 agosto 1998;51(2):504–12.

79. Veggiotti P, Beccaria F, Papalia G, Termine C, Piazza F, Lanzi G. Continuous spikes and waves during sleep in children with shunted hydrocephalus. *Child's Nervous System*. 26 maggio 1998;14(4–5):188–94.
80. De Grandis E, Mancardi MM, Carelli V, Carpaneto M, Morana G, Prato G, et al. Epileptic Encephalopathy With Continuous Spike and Wave During Sleep Associated to Periventricular Leukomalacia. *J Child Neurol*. novembre 2014;29(11):1479–85.
81. Parmeggiani A, Posar A, Scaduto MC. Cerebellar Hypoplasia, Continuous Spike-waves During Sleep, and Neuropsychological and Behavioral Disorders. *J Child Neurol*. dicembre 2008;23(12):1472–6.
82. Losito E, Battaglia D, Chieffo D, Raponi M, Ranalli D, Contaldo I, et al. Sleep-potentiated epileptiform activity in early thalamic injuries: Study in a large series (60 cases). *Epilepsy Research*. gennaio 2015;109:90–9.
83. Guzzetta F, Battaglia D, Veredice C, Donvito V, Pane M, Lettori D, et al. Early thalamic injury associated with epilepsy and continuous spike-wave during slow sleep. *Epilepsia*. giugno 2005;46(6):889–900.
84. Quigg M, Noachtar S. Sleep-potentiated epileptic discharges, language regression, and pediatric thalamic lesions. *Neurology*. 29 maggio 2012;78(22):1708–9.
85. Lesca G, Møller RS, Rudolf G, Hirsch E, Hjalgrim H, Szepietowski P. Update on the genetics of the epilepsy-aphasia spectrum and role of GRIN2A mutations. *Epileptic Disord*. 1 giugno 2019;21(S1):41–7.

86. Strehlow V, Heyne HO, Vlaskamp DRM, Marwick KFM, Rudolf G, de Bellescize J, et al. GRIN2A-related disorders: genotype and functional consequence predict phenotype. *Brain*. 01 2019;142(1):80–92.
87. Kessi M, Peng J, Yang L, Xiong J, Duan H, Pang N, et al. Genetic etiologies of the electrical status epilepticus during slow wave sleep: systematic review. *BMC Genet*. dicembre 2018;19(1):40.
88. Hu L-Y, Shi X-Y, Feng C, Wang J-W, Yang G, Lammers SHT, et al. An 8-year old boy with continuous spikes and waves during slow sleep presenting with positive onconeuronal antibodies. *European Journal of Paediatric Neurology*. marzo 2015;19(2):257–61.
89. Granata T, Cross H, Theodore W, Avanzini G. Immune-mediated epilepsies. *Epilepsia*. maggio 2011;52 Suppl 3:5–11.
90. Liu Z, Vergnes M, Depaulis A, Marescaux C. Involvement of intrathalamic GABAB neurotransmission in the control of absence seizures in the rat. *Neuroscience*. 1992;48(1):87–93.
91. Beenhakker MP, Huguenard JR. Neurons that Fire Together Also Conspire Together: Is Normal Sleep Circuitry Hijacked to Generate Epilepsy? *Neuron*. giugno 2009;62(5):612–32.
92. De Negri M, Baglietto MG, Battaglia FM, Gaggero R, Pessagno A, Recanati L. Treatment of electrical status epilepticus by short diazepam (DZP) cycles after DZP rectal bolus test. *Brain Dev*. ottobre 1995;17(5):330–3.

93. Holmes GL, Lenck-Santini P-P. Role of interictal epileptiform abnormalities in cognitive impairment. *Epilepsy & Behavior*. maggio 2006;8(3):504–15.
94. Goode DJ, Penry JK, Dreifuss FE. Effects of Paroxysmal Spike-Wave on Continuous Visual-Motor Performance. *Epilepsia*. settembre 1970;11(3):241–54.
95. Porter RJ, Kiffin Penry J, Dreifuss FE. Responsiveness at the onset of spike-wave bursts. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. marzo 1973;34(3):239–45.
96. Browne TR, Penry JK, Proter RJ, Dreifuss FE. Responsiveness before, during, and after spike-wave paroxysms. *Neurology*. luglio 1974;24(7):659–65.
97. Holmes GL, McKeever M, Adamson M. Absence seizures in children: Clinical and electroencephalographic features. *Ann Neurol*. marzo 1987;21(3):268–73.
98. Aarts JHP, Binnie CD, Smit AM, Wilkins AJ. SELECTIVE COGNITIVE IMPAIRMENT DURING FOCAL AND GENERALIZED EPILEPTIFORM EEG ACTIVITY. *Brain*. 1984;107(1):293–308.
99. Shewmon DA, Erwin RJ. The effect of focal interictal spikes on perception and reaction time. I. General considerations. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. aprile 1988;69(4):319–37.
100. Trenité DGAK-N, Bakker DJ, Binnie CD, Buerman A, Van Raaij M. Psychological effects of subclinical epileptiform EEG discharges. I. Scholastic skills. *Epilepsy Research*. marzo 1988;2(2):111–6.

101. Binnie CD. Cognitive impairment during epileptiform discharges: is it ever justifiable to treat the EEG? *The Lancet Neurology*. dicembre 2003;2(12):725–30.
102. Eriksson K, Kylliäinen A, Hirvonen K, Nieminen P, Koivikko M. Visual agnosia in a child with non-lesional occipito-temporal CSWS. *Brain Dev*. giugno 2003;25(4):262–7.
103. Veggiotti P, Bova S, Granocchio E, Papalia G, Termine C, Lanzi G. Acquired epileptic frontal syndrome as long-term outcome in two children with CSWS. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*. 1 dicembre 2001;31(6):387–97.
104. Eichenbaum H. The hippocampus and mechanisms of declarative memory. *Behavioural Brain Research*. settembre 1999;103(2):123–33.
105. Pearlman C. REM sleep deprivation impairs latent extinction in rats. *Physiol Behav*. agosto 1973;11(2):233–7.
106. Walker MP, Brakefield T, Morgan A, Hobson JA, Stickgold R. Practice with Sleep Makes Perfect: Sleep-Dependent Motor Skill Learning. :7.
107. Walker MP, Stickgold R. Sleep-Dependent Learning and Memory Consolidation. *Neuron*. settembre 2004;44(1):121–33.
108. Wetzell W, Wagner T, Balschun D. REM sleep enhancement induced by different procedures improves memory retention in rats. *Eur J Neurosci*. novembre 2003;18(9):2611–7.

109. Tassinari CA, Rubboli G. Cognition and Paroxysmal EEG Activities: From a Single Spike to Electrical Status Epilepticus during Sleep. *Epilepsia*. novembre 2006;47(s2):40–3.
110. Wolff M, Weiskopf N, Serra E, Preissl H, Birbaumer N, Kraegeloh-Mann I. Benign partial epilepsy in childhood: selective cognitive deficits are related to the location of focal spikes determined by combined EEG/MEG. *Epilepsia*. ottobre 2005;46(10):1661–7.
111. Morrell F, Whisler WW, Smith MC, Hoepfner TJ, Toledo-Morrell L de, Pierre-Louis SJC, et al. Landau—Kleffner syndrome: Treatment with subpial intracortical transection. *Brain*. 1995;118(6):1529–46.
112. De Tiege X, Goldman S, Laureys S, Verheulpen D, Chiron C, Wetzburger C, et al. Regional cerebral glucose metabolism in epilepsies with continuous spikes and waves during sleep. *Neurology*. 14 settembre 2004;63(5):853–7.
113. De Tiège X, Ligot N, Goldman S, Poznanski N, de Saint Martin A, Van Bogaert P. Metabolic evidence for remote inhibition in epilepsies with continuous spike-waves during sleep. *NeuroImage*. aprile 2008;40(2):802–10.
114. Tassinari CA, Cantalupo G, Rios-Pohl L, Giustina ED, Rubboli G. Encephalopathy with status epilepticus during slow sleep: “The Penelope syndrome”. *Epilepsia*. agosto 2009;50:4–8.
115. Parmeggiani A, Posar A. Punte-onda continue/subcontinue nel sonno (POCS): quadri a prognosi sfavorevole. :7.

116. Mellish LC, Dunkley C, Ferrie CD, Pal DK. Antiepileptic drug treatment of rolandic epilepsy and Panayiotopoulos syndrome: clinical practice survey and clinical trial feasibility. *Arch Dis Child*. gennaio 2015;100(1):62–7.
117. De Giorgis V, Filippini M, Macasaet JA, Masnada S, Veggiotti P. Neurobehavioral consequences of continuous spike and waves during slow sleep (CSWS) in a pediatric population: A pattern of developmental hindrance. *Epilepsy & Behavior*. settembre 2017;74:1–9.
118. Marescaux C, Hirsch E, Finck S, Maquet P, Schlumberger E, Sellal F, et al. Landau-Kleffner syndrome: a pharmacologic study of five cases. *Epilepsia*. dicembre 1990;31(6):768–77.
119. Wirrell E, Ho AW-C, Hamiwka L. Sulthiame therapy for continuous spike and wave in slow-wave sleep. *Pediatr Neurol*. settembre 2006;35(3):204–8.
120. Placidi F, Scalise A, Marciani MG, Romigi A, Diomedes M, Gigli GL. Effect of antiepileptic drugs on sleep. *Clinical Neurophysiology*. settembre 2000;111:S115–9.
121. Foldvary-Schaefer N, De Leon Sanchez I, Karafa M, Mascha E, Dinner D, Morris HH. Gabapentin Increases Slow-wave Sleep in Normal Adults. *Epilepsia*. dicembre 2002;43(12):1493–7.
122. Bazil CW. Effects of Antiepileptic Drugs on Sleep Structure: Are All Drugs Equal? *CNS Drugs*. 2003;17(10):719–28.
123. Lerman P, Lerman-Sagie T, Kivity S. Effect of early corticosteroid therapy for Landau-Kleffner syndrome. *Dev Med Child Neurol*. marzo 1991;33(3):257–60.

124. Tsuru T, Mori M, Mizuguchi M, Momoi MY. Effects of high-dose intravenous corticosteroid therapy in Landau-Kleffner syndrome. *Pediatr Neurol.* febbraio 2000;22(2):145–7.
125. Sinclair DB, Snyder TJ. Corticosteroids for the treatment of Landau-Kleffner syndrome and continuous spike-wave discharge during sleep. *Pediatr Neurol.* maggio 2005;32(5):300–6.
126. Fayad MN, Choueiri R, Mikati M. Landau-Kleffner syndrome: consistent response to repeated intravenous gamma-globulin doses: a case report. *Epilepsia.* aprile 1997;38(4):489–94.
127. Lagae LG, Silberstein J, Gillis PL, Casaer PJ. Successful use of intravenous immunoglobulins in Landau-Kleffner syndrome. *Pediatr Neurol.* febbraio 1998;18(2):165–8.
128. Morrell F, Whisler WW, Bleck TP. Multiple subpial transection: a new approach to the surgical treatment of focal epilepsy. *J Neurosurg.* febbraio 1989;70(2):231–9.
129. Nass R, Gross A, Wisoff J, Devinsky O. Outcome of multiple subpial transections for autistic epileptiform regression. *Pediatr Neurol.* luglio 1999;21(1):464–70.
130. Loddenkemper T, Cosmo G, Kotagal P, Haut J, Klaas P, Gupta A, et al. EPILEPSY SURGERY IN CHILDREN WITH ELECTRICAL STATUS EPILEPTICUS IN SLEEP. *Neurosurgery.* 1 febbraio 2009;64(2):328–37.

131. Bergqvist AG, Chee CM, Lutchka LM, Brooks-Kayal AR. Treatment of acquired epileptic aphasia with the ketogenic diet. *J Child Neurol.* novembre 1999;14(11):696–701.
132. Park YD. The effects of vagus nerve stimulation therapy on patients with intractable seizures and either Landau-Kleffner syndrome or autism. *Epilepsy Behav.* giugno 2003;4(3):286–90.
133. van den Munckhof B, van Dee V, Sagi L, Caraballo RH, Veggiotti P, Liukkonen E, et al. Treatment of electrical status epilepticus in sleep: A pooled analysis of 575 cases. *Epilepsia.* novembre 2015;56(11):1738–46.
134. Berg AT, Loddenkemper T, Baca CB. Diagnostic delays in children with early onset epilepsy: impact, reasons, and opportunities to improve care. *Epilepsia.* gennaio 2014;55(1):123–32.
135. Pedro VM, Leisman G. Hemispheric integrative therapy in Landau-Kleffner syndrome: applications for rehabilitation sciences. *Int J Neurosci.* agosto 2005;115(8):1227–38.
136. Wilson RB, Eliyan Y, Sankar R, Hussain SA. Amantadine: A new treatment for refractory electrical status epilepticus in sleep. *Epilepsy & Behavior.* luglio 2018;84:74–8.
137. Perry MS, Bailey LJ, Kotecha AC, Malik SI, Hernandez AW. Amantadine for the Treatment of Refractory Absence Seizures in Children. *Pediatric Neurology.* 1 aprile 2012;46(4):243–5.

138. Temme L, Schepmann D, Schreiber JA, Frehland B, Wünsch B. Comparative Pharmacological Study of Common NMDA Receptor Open Channel Blockers Regarding Their Affinity and Functional Activity toward GluN2A and GluN2B NMDA Receptors. *ChemMedChem*. 06 2018;13(5):446–52.
139. Reutlinger C, Helbig I, Gawelczyk B, Subero JIM, Tönnies H, Muhle H, et al. Deletions in 16p13 including GRIN2A in patients with intellectual disability, various dysmorphic features, and seizure disorders of the rolandic region. *Epilepsia*. 2010;51(9):1870–3.
140. Lemke JR, Lal D, Reinthaler EM, Steiner I, Nothnagel M, Alber M, et al. Mutations in GRIN2A cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes. *Nat Genet*. settembre 2013;45(9):1067–72.
141. Electrical status epilepticus during slow-wave sleep (ESESS) | Epilepsy Action [Internet]. [citato 30 giugno 2020]. Available at: <http://www.epilepsy.org.uk/info/syndromes/electrical-status-epilepticus-during-slow-wave-sleep-esess>
142. C C, Ja de B. The surface Laplacian technique in EEG: Theory and methods. *Int J Psychophysiol*. 9 maggio 2015;97(3):174–88.
143. Kayser J, Tenke CE. Issues and considerations for using the scalp surface Laplacian in EEG/ERP research: A tutorial review. *Int J Psychophysiol*. settembre 2015;97(3):189–209.

144. Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat Methods*. 2020;17(3):261–72.
145. Busek P, Buskova J, Nevsimalova S. Interictal epileptiform discharges and phasic phenomena of REM sleep. *Epileptic Disord*. settembre 2010;12(3):217–21.
146. Lim AS, Moro E, Lozano AM, Hamani C, Dostrovsky JO, Hutchison WD, et al. Selective enhancement of rapid eye movement sleep by deep brain stimulation of the human pons. *Annals of Neurology*. 2009;66(1):110–4.
147. Romigi A, Placidi F, Peppe A, Pierantozzi M, Izzi F, Brusa L, et al. Pedunculopontine nucleus stimulation influences REM sleep in Parkinson’s disease: Letter to the Editor. *European Journal of Neurology*. luglio 2008;15(7):e64–5.

RINGRAZIAMENTI

Arrivata al termine di questi lunghi, lunghissimi, a tratti estenuanti sei anni e alla conclusione di questa tesi, è il momento di ringraziare chi di dovere.

Comincio naturalmente con un grande e doveroso grazie al professor Nobili, per avermi dato la possibilità di avventurarmi nel mondo della neuropsichiatria infantile, per essere stato, come medico, un modello di professionalità, competenza e grande umanità e per avermi guidato in questo percorso con tanta disponibilità e pazienza. Ovviamente, grazie anche a Thea Giacomini, vera sopportatrice in questi mesi di lavoro, per avermi dato una grossa mano nella stesura della tesi e per aver lavorato duramente insieme a me.

Un grazie sospiratissimo va alla dottoressa Alessandra Cazzaro, che negli ultimi due anni ha, in un certo senso, percorso questo viaggio universitario e di vita insieme a me e che è riuscita a trasmettermi una grande forza ed una buona quota di fiducia in me stessa: grazie, un pezzetto di questo lavoro e di questo traguardo lo devo senz'altro a Lei.

Ora è senza dubbio il momento di ringraziare la mia famiglia, a partire da mamma e papà: vi ringrazio per avermi dato la possibilità di affrontare questo percorso senza mai ostacolarmi e appoggiando ogni mia scelta, prima fra tutte quella di trasferirmi così lontano da casa; grazie mamma e papà per il dispendio economico, ma soprattutto di energie, so che per sopportare le mie tribolazioni ve ne sono servite tante!! Spero che questo traguardo possa in qualche modo ripagarvi di tutti i vostri sforzi.

Grazie anche alla mia super sorella, Anna, che nonostante la distanza geografica resta sempre uno dei miei principali punti di riferimento (soprattutto, grazie Anna di essere così brava, dopo i tuoi mille esami e le tue due lauree, la mia non sortirà sicuramente l'effetto

desiderato :-P). Insieme ad Anna, ringrazio anche Reekee, se non altro per essere nato il mio stesso giorno, non a caso il giorno più carino dell'anno.

Ringraziare tutti i parenti ad uno ad uno diventa veramente troppo difficile, siete troppi, quindi faccio un mega ringraziamento generale a tutti gli zii, cugini, consorti di cugini, figli di cugini e ovviamente alle mie super nonne, per aver figliato così tanto e per avermi permesso di crescere in una famiglia così grande, numerosa e bella.

Sempre in tema famiglia, vorrei ringraziare anche le magnifiche persone che negli ultimi anni mi hanno accolto fra loro trattandomi come una figlia e facendomi sempre sentire a casa: grazie Carmen e Antonio e grazie nonna Pia, ormai siete per me la mia seconda famiglia! Ovviamente, grazie anche a zia Maura e zio Antonio.

Un ringraziamento particolare va a questa città, ai suoi vicoli, gli scorci, le spiagge, il mare, il sole, i genovesi mugugnoni, il porto, la focaccia, la focaccia pucciata nel cappuccino, il pesto, la prescinseua, i pansoti col sugo di noci, l'asinello, Boccadasse, belin, belan, belandi, l'Aurelia in moto col vento fra i capelli, il karaoke, il corner bar (questa è per voi, casse!), ... Genova, non è poi così difficile volerti bene!

Ora inizia la carrellata di ringraziamenti agli amici, "vecchi" e "nuovi":

GRAZIE alle mie amiche del cuore, alle mie amiche di sempre, conosciute fra i banchi di scuola, quando ancora eravamo piccole e indifese, ci facevamo le mèche rosse su tagli di capelli improbabili (sad story), ma soprattutto sapevamo ancora fare tanta festa: grazie Michi (la mia MP since 1998), Vane, Glo, Lauri ed Eva, avrete sempre un posto nel mio cuore e per quanto saremo lontane, per me sarete sempre CASA!

Grazie anche alla Ari, amica speciale dai tempi di Netlog e delle uscite pomeridiane con gli amici di Cordi: da allora ne sono successe di cose, ma nonostante ciò, l'aperitivo in piazza ed il solito "Stavolta pago io, alla prossima tocca a te!" resta ancora una certezza!!

Grazie alle amiche di Genova (anche se di genovesi ce n'è ben poche), compagne di studio, di serate nei vicoli a fare il karaoke, di improbabili medical party e di mille avventure e sventure; parto da quelle conosciute fin dai primi giorni: Fra Zanin, Ali, Ale, Ele. A te, Elena, un ringraziamento un po' speciale, perché fra mille alti e bassi sei la persona con cui in assoluto ho condiviso più cose (fra cui la casa e tanti, tanti, tantissimi esami)! Grazie a Babi e Fra Topina, che resteranno sempre e comunque le mie coinquiline; grazie Giuli, la mia Facina, nonostante lo scarso feeling iniziale ora facciamo addirittura i tiktok insieme!!! E infine grazie alle restanti Young signorine, amiche conosciute un po' più tardi, ma non per questo meno importanti: grazie Limonta, Cami, Robi, Olly, Sha, Sve, Cri e Benni, vi voglio vedere sempre piccanti e rigorosamente in palette!!

Grazie anche alle Casse (Maestro, Mago, Baffo, Garcla, Enri, Spu, Popsit, Jack, Giovannino, Jacopino, Lollo, Bosi, Matte e Richi): ognuno di voi ha contribuito, a suo modo, a rendere gli ultimi due anni un po' più leggeri, per cui questo ringraziamento ve lo meritate, potessi vi farei due giravolte al palo!!

Un ringraziamento anche agli amici di Fra, che però ora sono anche un po' amici miei: Norbi, Tommy, Paolino, Dadu; menzione a parte ai Papigliano (Richi, Emi, Marcolino e Marco Baro), perché siete dei pazzi scalmanati, ma vi voglio bene proprio per questo!!

Sempre per la categoria "amici di Fra, diventati anche amici miei", un GRAZIE speciale va assolutamente a te Claudietto, perché mi hai dato un insegnamento prezioso che porterò con me sempre: SERENONA, a forza di ripetermelo come un mantra, un po' lo sto imparando!

E infine per forza, the last but not least, grazie a Fra: ti ho lasciato per ultimo perché con te paradossalmente è più difficile; alla fine, credo mi limiterò a dirti GRAZIE di cuore, grazie per essere qui al mio fianco, oggi e sempre, con amore, costanza e coraggio; anche se non l'hai mai letta, questa tesi è anche un po' tua, è anche un po' per te! Ah, sì, grazie anche per averci dato, almeno tu, la possibilità di festeggiare una laurea insieme!! (ogni riferimento a fatti o persone realmente esistiti è puramente casuale...).

A questo punto, un grazie e una pacca sulla spalla, per una volta, me li faccio da sola: brava Mery, questa volta sì che puoi essere fiera di te!