



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

TESI DI LAUREA

**Fisiopatologia della risposta fotoparossistica
nella Epilessia Mioclonica Giovanile: studio
EEG – Risonanza Magnetica funzionale**

Relatore

Candidato

Chiar.mo Prof. *Ubaldo Bonuccelli*

Lorenzo Caciagli

Anno Accademico 2012 - 2013

RIASSUNTO ANALITICO

L'Epilessia Mioclonica Giovanile (JME) è una sindrome elettro-clinica, classificata tra le epilessie generalizzate genetiche, che presenta esordio tipicamente in età giovanile ed è caratterizzata da crisi miocloniche, tonico-cloniche e talora assenze tipiche. Le anomalie elettroencefalografiche di più frequente riscontro sono rappresentate da complessi punta/polipunta-onda a 3-6 Hz. La fotosensibilità è un fenotipo particolarmente frequente nei pazienti JME, con prevalenza variabile fra il 30% e il 90% a seconda delle casistiche (Wolf & Goosses, 1986; Appleton et al. 2000).

Con approcci neurofisiologici classici, la fisiopatologia della fotosensibilità nella JME non è ancora stata chiarita. L'utilizzo di un approccio innovativo e multimodale, quale l'associazione di EEG e Risonanza Magnetica funzionale (EEG-fMRI) consente di mappare l'attivazione funzionale (tramite misura del c.d. segnale *blood-oxygen-level-dependent*-BOLD) specifica di aree cerebrali in concomitanza temporale con anomalie elettroencefalografiche selezionate dallo sperimentatore: un'analisi del pattern di attivazioni/deattivazioni in relazione allo stimolo luminoso e alle anomalie epilettiformi foto-indotte può aiutare a chiarire i *networks* coinvolti nella generazione della scarica epilettiforme.

Per il presente studio sono stati reclutati venti soggetti, dieci pazienti JME e dieci controlli sani. Gli obiettivi sono rappresentati da: (1) caratterizzazione delle mappe fMRI in pazienti e controlli in risposta a un protocollo di stimolazione luminosa intermittente (SLI) a bassa luminanza; (2) identificazione dell'andamento temporale del segnale BOLD, nel sottogruppo di pazienti foto-sensibili, in relazione alla comparsa di risposta fotoparossistica nel tracciato EEG. Come ulteriore sotto-analisi, abbiamo validato il nostro metodo di SLI a bassa luminanza e luce rossa (lunghezza d'onda = 680 nm), effettuata durante la risonanza tramite occhialini LCD RM-compatibili, rispetto al protocollo di stimolazione con luce stroboscopica convenzionalmente utilizzato durante EEG di routine.

Nei controlli sani abbiamo rilevato, in corrispondenza della stimolazione luminosa, l'attivazione delle aree visive striate ed extrastriate e del putamen, e la deattivazione di aree cerebrali deputate alla preparazione ed attuazione del movimento. Nei pazienti si è identificato l'attivazione delle aree visive, in maniera meno marcata rispetto ai controlli, e la deattivazione delle aree costituenti il c.d. *default mode network*. Il task di stimolazione luminosa a bassa luminanza ha determinato la comparsa di risposta fotoparossistica (PPR) nel tracciato EEG nel 70% dei pazienti. In tali soggetti, l'analisi temporale del segnale

BOLD in intervalli antecedenti e successivi alla risposta fotoparossistica (PPR) ha mostrato l'attivazione del putamen prima della PPR, seguita dall'attivazione di aree motorie e del talamo poco dopo l'anomalia; successivamente, sono stati osservati soprattutto fenomeni di deattivazione a carico di aree motorie, caudato-putamen bilateralmente e *default mode network* nella sua componente anteriore. Nella sotto-analisi comparativa delle metodiche di stimolazione luminosa, la tecnica a bassa luminanza con luce rossa è risultata più provocativa della metodica SLI convenzionale, confermando l'utilità di tale approccio per questa categoria di pazienti.

I risultati da noi ottenuti suggeriscono che, nel contesto dell'alterazione della connettività funzionale tra aree visive e aree motorie, recentemente identificata nella JME, un ruolo significativo possa essere svolto dai circuiti dei nuclei dalla base. La complessa sequenza di attivazioni e deattivazioni, riscontrata in corrispondenza delle risposte fotoparossistiche, potrebbe rappresentare la manifestazione dell'alterazione della connettività del sistema striato-talamo-corticale, verosimile base fisiopatologica della JME.

INDICE

RIASSUNTO ANALITICO	1
INDICE.....	3
ABBREVIAZIONI	5
INTRODUZIONE	6
EPILESSIA: DEFINIZIONI E CLASSIFICAZIONI	6
“Crisi epilettica” ed “Epilessia”: definizioni.....	6
Epidemiologia	8
Classificazione delle crisi e delle sindromi epilettiche	8
Attività EEG epilettiforme	14
EPILESSIA MIOCLONICA GIOVANILE.....	15
Definizione, epidemiologia, caratteristiche elettro-cliniche.....	15
Genetica e Fisiopatologia	18
FOTOSENSIBILITÀ	23
Definizione	23
Storia del fenomeno “fotosensibilità”	25
Rilevanza clinica, epidemiologia e cenni eziologici.....	26
Manifestazioni cliniche della risposta fotoparossistica.....	28
Meccanismi della fotosensibilità: ipereccitabilità corticale?	30
Meccanismi della fotosensibilità: quale via visiva? V'è un ruolo del colore?	36
Metodiche di valutazione della fotosensibilità.....	40
EEG-fMRI.....	45
EEG	45
Risonanza Magnetica funzionale.....	47
Combinazione: EEG-fMRI	50
EEG-fMRI in epilessia	53
EEG-fMRI nelle epilessie generalizzate idiopatiche	55
Fotosensibilità ed EEG-fMRI	57

Le reti di riposo.....	59
OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	63
METODI.....	65
Popolazione.....	65
Caratteristiche tecniche del protocollo EEG-fMRI e della LLVS impiegata	65
Analisi dei dati EEG-fMRI	68
Protocollo EEG-SLI convenzionale e confronto con LLVS deep red: metodi e analisi dei dati.....	70
RISULTATI	72
Popolazione in esame	72
Risultati dell' EEG con LLVS eseguito durante la RM	73
Risultati dell'analisi EEG-fMRI.....	75
Risultati dell'EEG con SLI convenzionale e confronto con LLVS.....	87
DISCUSSIONE.....	88
BIBLIOGRAFIA	93
RINGRAZIAMENTI	112

ABBREVIAZIONI

BOLD	Blood-Oxygen-Level-Dependent [signal] = segnale dipendente dal livello di ossigenazione ematica
CSP	Periodo Silente Corticale
EEG	Elettroencefalogramma
EMG	Elettromiografia
EPI	Echo-Planar Imaging
DTI	Imaging con Tensore di Diffusione
fMRI	Imaging di Risonanza Magnetica funzionale
GE-EPI	Gradient Echo – Echo-Planar Imaging
GLM	General Linear Model
HRF	Hemodynamic Response Function / Funzione di risposta emodinamica
IGE	Epilessia Generalizzata Idiopatica
ILAE	Lega Internazionale Contro l'Epilessia
IPOE	Epilessia Idiopatica Fotosensibile del lobo Occipitale
ITC	Commissione Televisiva Indipendente (Britannica)
LLVS	Stimolazione visiva a bassa luminanza
MEG	Magnetoencefalografia
P-O	Punta-Onda
PEM	Potenziali Evocati Motori
PCC	Corteccia Cingolata Posteriore
PET	Tomografia a Emissione di Positroni
PEV	Potenziali Evocati Visivi
PP-O	Poli-Punta Onda
PPR	Risposta FotoParossistica
OS	Spikes Occipitali
RM(N)	Risonanza Magnetica (Nucleare)
RSN	Resting State Network / Rete di Riposo
SNP	Polimorfismi a Singolo Nucleotide
TC	Tomografia Computerizzata
TMS	Stimolazione Magnetica Transcranica
VBM	Morfometria Voxel-Based

INTRODUZIONE

EPILESSIA: DEFINIZIONI E CLASSIFICAZIONI

“Crisi epilettica” ed “Epilessia”: definizioni

Nota nell'antichità come il “Morbo Sacro”, in passato l'epilessia è stata sempre considerata come una delle più oscure e intriganti manifestazioni umane, e ne è spesso stata rimarcata l'affinità con esperienze religiose, sino alla possessione demoniaca. Per quanto riguarda l'etimologia, il termine epilessia deriva dal verbo greco ἐπιλαμβάνειν (“sono colpito da qualcosa”, “sono sopraffatto”, “sono colto di sorpresa”), e già nelle sue radici porta pertanto le caratteristiche essenziali del fenomeno epilettico: l'avvenire in maniera improvvisa, e con transitoria sopraffazione delle facoltà del soggetto che ne è colto (Gowers, 1885; Temkin, 1994). Benché Ippocrate, nel V secolo d.C., fu il primo autore a ritenere l'epilessia una patologia cerebrale, si deve giungere al XIX secolo per ottenere la prima appropriata formulazione di che cosa costituisca una crisi epilettica. Nel 1870, John Hughling Jackson la definiva il risultato di una scarica occasionale, eccessiva e disordinata di tessuto nervoso”, individuando già, prima ancora dell'esistenza di dispositivi in grado di registrare l'attività elettrica del sistema nervoso, gli attributi fondamentali di una crisi epilettica: (a) la sua non ordinarietà, (b) il “disordine” e quindi la capacità di dare luogo a una disfunzione visibile e (c) l'eccesso di attività nervosa ad essa sottesa (Gowers, 1885). Un'ulteriore dimensione caratterizzante una crisi, l'iper-sincronismo neuronale, è stata poi identificata solo dopo il 1929, a seguito dell'introduzione da parte di Hans Berger dell'elettroencefalografia. Difatti, l'attuale definizione di crisi epilettica da parte della Lega internazionale Contro l'Epilessia (ILAE), frutto del lavoro di una task force internazionale di esperti dedicata alla terminologia e alle classificazioni, così recita: “una crisi è un evento parossistico caratterizzato da segni e/o sintomi dovuti a una eccessiva e/o ipersincrona attività neuronale corticale” (Fisher et al., 2005a). Le manifestazioni cliniche citate nella definizione, come si vedrà in seguito, sono ampiamente variabili, e includono in generale fenomeni improvvisi e transitori quali manifestazioni sensitive, motorie, autonome o psichiche, variamente associate a un'alterazione dello stato di coscienza, percepite dal paziente e/o da un osservatore (Blume et al., 2001; Fisher et al., 2005a).

Mentre vi è sostanziale unanimità, tra gli epilettologi, sulla definizione e le caratteristiche cruciali di una crisi epilettica, il medesimo accordo è più difficoltoso da trovare sul

significato del termine epilessia. Le definizioni dell'epilessia che si sono succedute negli ultimi anni sono varie e numerose, e una loro dettagliata discussione esula dagli scopi dell'elaborato. Tuttavia, per completezza, è da menzionare che quella più recente, formulata da una task force della ILAE nel 2005, e nei confronti della quale vigono discreti consensi (Beghi et al., 2005; Panayiotopoulos, 2010), afferma che l'epilessia è “una disfunzione cerebrale caratterizzata da una predisposizione prolungata a generare crisi epilettiche, e dalle conseguenze neurobiologiche, cognitive, psicologiche e sociali di questa condizione” (Fisher et al., 2005a). Operativamente, questa definizione presuppone che anche una sola crisi epilettica sia sufficiente per poter diagnosticare l'epilessia, a condizione che essa avvenga in presenza di un'alterazione duratura a carico del sistema nervoso centrale (*'enduring alteration in the brain'*), tale da incrementare la probabilità di dar luogo a crisi nel futuro. Il concetto centrale in tale formulazione è proprio l'accostamento causale tra epilessia e un'alterazione cerebrale non transitoria, che consentirebbe al medico dare un significato diverso a una prima crisi epilettica, a seconda che avvenga in un individuo con una *'enduring alteration'*, (da ritenere epilettico), o in un individuo privo di tale alterazione a carico del sistema nervoso centrale (non epilettico fino a prova contraria). Ciò ha portato ad eliminare requisiti diagnostici ritenuti imprescindibili da precedenti classificazioni, come la necessità di almeno due crisi o la condizione che fossero “non provocate” da qualsiasi altra causa medica riconoscibile e causalmente imputabile (Commission 1981, 1989). Gli elementi che non convincono nella definizione sopra menzionata sono però non trascurabili, quali la poca precisione nel chiarire che cosa si debba o non si debba ritenere *'enduring alteration'*, o il fatto che in molti pazienti l'epilessia non dia luogo alle sopra menzionate conseguenze di tipo cognitivo e/o psico-sociale. Inoltre, eminenti esperti del settore (Beghi et al., 2005; Panayiotopoulos, 2010) ritengono che, data l'estrema varietà delle manifestazioni epilettiche, sia più corretto parlare di “epilessie” e non semplicemente di “epilessia”. Riporto pertanto una definizione alternativa delle “epilessie”, quella dell'illustre epilettologo Chrysostomos Panayiotopoulos, che potremmo vedere come complementare a quella ILAE: le epilessie sono patologie del sistema nervoso caratterizzate da una suscettibilità clinicamente manifesta a dar luogo a crisi epilettiche (Panayiotopoulos, 2010).

Epidemiologia

Le crisi epilettiche si verificano con discreta frequenza nella popolazione generale. È stato stimato infatti che fino a un 5% di essa possa sperimentare almeno una crisi nel corso della vita (Sander and Shorvon, 1996; Jallon, 2006). L'incidenza di epilessia risulta età-correlata e presenta una distribuzione bimodale con due picchi, il primo nei neonati e nei bambini di età inferiore a un anno (incidenza variabile tra i 100 e i 233/100000/anno, valori riferiti ai Paesi Industrializzati) e il secondo in età avanzata, oltre i 65 anni. In quest'ultimo gruppo d'età l'incidenza torna ad attestarsi su 100-170/100000/anno, dopo essere declinata a 60/100000/anno durante la prima infanzia e a 30-40/100000/anno durante l'adolescenza e l'età adulta (Jallon, 2006). Di conseguenza, la prevalenza dell'epilessia aumenta con l'età: 2.3/1000 della popolazione a 7 anni, sino ai 4-6/1000 a 10-15 anni. I valori medi per l'età adulta (per individui minori di 65 anni) appaiono tra i 5 e i 10/1000 a seconda delle casistiche. Incidenza e prevalenza appaiono lievemente superiori per il sesso maschile (M/F: 1.2-1.5) (Sander and Shorvon, 1996; Bell and Sander, 2001; Jallon, 2006).

Notevole variabilità si osserva tra aree geografiche, e anche tra stati appartenenti alle medesime aree; l'incidenza di epilessia risulta maggiore in Africa e in America Latina, con uno scarto di circa 30/100000/anno in più rispetto a Europa, Nordamerica e Oceania (Sander and Shorvon, 1996; Bell and Sander, 2001; Bartolini et al., 2011). Vari fattori socio-economici e culturali sono stati chiamati in causa prima ancora di quelli genetici, tra cui ad esempio l'elevata prevalenza di neurocisticercosi in America Latina e in stati Africani a prevalenza non islamica (Jallon, 2006).

Classificazione delle crisi e delle sindromi epilettiche

Si è precedentemente esplicitato che con il termine "epilessia" si chiama in causa una famiglia di patologie estremamente variabile, e il cui talora unico aspetto comune è proprio la loro principale manifestazione clinica, le crisi epilettiche. In tale ottica si spiega lo spiccato impeto classificativo da parte degli epilettologi, culminante nelle commissioni congiunte dell'ILAE succedutesi negli ultimi cinquanta anni, allo scopo di discernere con precisione le varie tipologie di crisi e raggrupparle in maniera univoca in entità sindromiche.

D'importanza storica sono i primi tentativi di inquadramento nosografico, sia delle crisi epilettiche, su iniziativa di Gastaut nel 1970 (Gastaut, 1970) che delle "epilessie" (il termine sindrome non viene in tal caso utilizzato) da parte di Merlis, sempre nel 1970 (Merlis,

1970). È apparsa chiara già da queste prime proposte la volontà di distinguere la crisi epilettica dall'epilessia; tuttavia, va sottolineato che il termine "epilessia" non era inteso da Gastaut nell'accezione attuale, ma impiegato solo per indicare "eziologia e/o localizzazione" della lesione epilettogena (Gastaut, 1970). Inoltre, pur volendo separare in linea di principio le crisi dalle epilessie, l'utilizzo dei medesimi criteri, d'ordine clinico, elettro-fisiologico ed epidemiologico per classificare sia le une che le altre, ha parzialmente vanificato tale proposito (Gastaut, 1970; Merlis, 1970). La riformulazione della classificazione delle crisi e delle sindromi epilettiche sotto l'egida ILAE, nel 1981 (Commission, 1981) e nel 1989 (Commission, 1989) rispettivamente, ha dato luogo alla pubblicazione di due resoconti che, sino alle modifiche apportate nel 2010, hanno rappresentato per gli epilettologi un punto di riferimento unico e imprescindibile.

La classificazione delle crisi ILAE 1981 utilizza esclusivamente due criteri: (a) le manifestazioni cliniche ascrivibili alla crisi e (b) le caratteristiche dell'EEG, ictale e inter-ictale, escludendo invece qualsiasi connotazione epidemiologica o fisiopatologica. La prima distinzione riguarda l'estensione della rete neuronale che dà origine alla crisi. Si definiscono infatti crisi epilettiche focali o parziali o locali (è oggi preferito il termine focale), e crisi epilettiche generalizzate: le prime originano da una rete neuronale confinata a un solo emisfero, mentre le seconde insorgono nel contesto di reti neuronali estese bilateralmente e/o coinvolgono simultaneamente entrambi gli emisferi *ab initio*.

Le crisi focali vengono ulteriormente suddivise in:

- (1) Semplici: se non sussiste alterazione dello stato di coscienza. Esse sono ulteriormente distinte a seconda delle caratteristiche semeiologiche, a loro volta dipendenti dalla sede del focolaio epilettogeno, in quattro macro-aree: (a) motorie, (b) sensitive, (c) autonome e (d) psichiche. Una crisi di pertinenza di ciascuna macro-area semeiologica è a sua volta ulteriormente caratterizzabile (vedi Figura 1).
- (2) Complesse: se la coscienza non è preservata. Sono classificabili in (a) crisi parziali complesse con inizio parziale semplice e successiva perdita di coscienza e (b) parziali complesse *ab initio*.
- (3) Con secondaria generalizzazione: l'inizio della crisi può essere parziale semplice o complesso (o addirittura evolvere in serie dalla prima alla seconda manifestazione), ed è successivamente seguito da un interessamento bi-emisferico e semeiologia compatibile con quella delle crisi generalizzate (Commission, 1981).

ILAE classification of partial (focal, local) seizures				
Clinical seizure type	EEG seizure type	EEG inter-ictal expression		
A. Simple partial seizures (consciousness not impaired)				
1. With motor signs	Local contralateral discharge starting over the corresponding area of cortical representation (not always recorded on the scalp)	Local contralateral discharge		
a. Focal motor without march				
b. Focal motor with march (jacksonian)				
c. Versive				
d. Postural				
e. Phonatory (vocalisation or arrest of speech)				
2. With somatosensory or special-sensory symptoms (simple hallucinations, e.g. tingling, light flashes, buzzing)				
a. Somatosensory				
b. Visual				
c. Auditory				
d. Olfactory				
e. Gustatory				
f. Vertiginous				
3. With autonomic symptoms or signs (including epigastric sensation, pallor, sweating, flushing, piloerection and pupillary dilation)				
4. With psychic symptoms (disturbance of higher cerebral function). These symptoms rarely occur without impairment of consciousness and are much more commonly experienced as complex partial seizures				
a. Dysphasic				
b. Dysmnestic (e.g. déjà vu)				
c. Cognitive (e.g. dreamy states, distortions of time sense)				
d. Affective (e.g. fear, anger)				
e. Illusions (e.g. macropsia)				
f. Structured hallucinations (e.g. music, scenes)				
B. Complex partial seizures (with impairment of consciousness; may sometimes begin with simple symptomatology)				
1. Simple partial onset followed by impairment of consciousness	Unilateral or, frequently, bilateral discharge, diffuse or focal in temporal or frontotemporal regions	Unilateral or bilateral, generally asynchronous focus; usually in the temporal or frontal regions		
a. With simple partial features (A1 to A4) followed by impaired consciousness				
b. With automatisms				
2. With impairment of consciousness at onset				
a. With impairment of consciousness only				
b. With automatisms				
C. Partial seizures evolving to secondarily generalised seizures (this may be generalised tonic-clonic, tonic or clonic) (above discharges become secondarily and rapidly generalised)				
1. Simple partial seizures (A) evolving to generalised seizure				
2. Complex partial (B) evolving to generalised seizure				
3. Simple partial seizures evolving to complex partial seizures evolving to generalised seizure				

Figura 1. Classificazione delle crisi epilettiche focali. Si noti la suddivisione in tipi (semplici, complesse, secondariamente generalizzate) e sottotipi adottata a seguito della *Consensus Conference ILAE* del 1981. Tratta da Panayiotopoulos, 2010.

Per quanto riguarda le crisi generalizzate, esse possono essere ulteriormente classificate in:

- (1) Assenze tipiche: caratterizzate da rottura del contatto solitamente di breve durata, con inizio e cessazione improvvisi, talora accompagnata da componenti di altre crisi generalizzate. L'EEG è inequivocabilmente caratterizzato da complessi punta-onda (P-O) bilaterali e simmetrici compresi tra i 2-4 Hz, tipicamente a 3 Hz (più raramente compresenza di complessi polipunta-onda), a brusca insorgenza e brusca scomparsa, nel contesto di un ritmo EEG di fondo completamente normale.
- (2) Assenze atipiche: distinte da quelle tipiche per inizio e/o cessazione meno incisivi e marcata compresenza di componenti di altre crisi generalizzate, in particolare atonia. Il

reperto EEG è più eterogeneo: i complessi punta-onda sono irregolari, non simmetrici tra i due lati e spesso frammisti ad altra attività epilettiforme, e con insorgenza e scomparsa graduale.

- (3) Atoniche: contraddistinte da improvvisa riduzione o perdita completa del tono della muscolatura anti-gravitaria con cedimento posturale, associata a polipunta-onda, attività rapida a basso voltaggio o appiattimento del tracciato EEG.
- (4) Cloniche: contrazioni ritmiche della muscolatura striata, nel contesto di attività rapida (≥ 10 Hz) e onde lente.
- (5) Toniche: caratterizzate da contrazione tonica protratta della muscolatura striata, nel contesto di attività rapida a basso voltaggio o da un ritmo rapido (9-10 Hz) che si riduce in frequenza e aumenta in ampiezza durante la fase tonica.
- (6) Tonico-cloniche: più frequenti delle crisi toniche o cloniche a sé stanti, caratterizzate da una fase tonica (contrazione diffusa della muscolatura striata, morsus, arresto respiratorio, fenomeni autonomici), e da una fase clonica come sopra descritto. Ritmo EEG: di norma rapido (≥ 10 Hz) con aumento progressivo in ampiezza e riduzione in frequenza durante la fase tonica, intervallato da attività tipo onda lenta durante la fase clonica.
- (7) Miocloniche: si presentano come brevi (<100 ms), improvvise e involontarie contrazione di un muscolo, gruppo di muscoli o diversi gruppi di muscoli, con caratteristici correlati EEG (complessi PP-O, generalizzati a 3-6 Hz) ed elettromiografici (potenziali bifasici o polifasici della durata di 20-120 ms, seguiti da una contrazione tonica o da un'atonia) (Commission, 1981).

Le successive iniziative di integrazione e/o correzione della classificazione iniziale (Engel, 2001, 2006; Berg et al., 2010) hanno apportato modifiche non sostanziali alla versione sopra delineata. Fino ai reports del 2006, le principali modifiche riguardavano l'integrazione degli aspetti elettroencefalografici e semeiologici con la localizzazione delle reti neuronali interessate (ovvero, neocorticale o ippocampale/paraippocampale/limbica), per le crisi focali; per le crisi generalizzate, invece, veniva proposto il riconoscimento ufficiale di altre tipologie di crisi, come le assenze miocloniche, le crisi mioclonico-astatiche e le mioclonie palpebrali (Engel, 2001, 2006). L'ultima versione di classificazione, pubblicata nel 2010, ha molto semplificato il quadro delle crisi focali, eliminando di fatto la distinzione fra le differenti tipologie (semplici, complesse) e invitando semplicemente a utilizzare descrittori quali: "focali motorie", "autonomiche", "aure" (ovvero, fenomeni soggettivi sensoriali o psichici senza compromissione della coscienza) o "discognitive" (ovvero, con

compromissione dello stato di coscienza) (Berg et al., 2010); per le crisi generalizzate, sono state di poco estese le modifiche sopra citate (Engel, 2001, 2006): le assenze miocloniche e le mioclonie palpebrali sono state integrate come “assenze con caratteristiche speciali”, in aggiunta alle “assenze tipiche” e alle “assenze atipiche”; sono state poi aggiunte, quali sottotipi di crisi miocloniche le crisi mioclonico-atoniche (precedentemente mioclonico-astatiche) e le mioclonico-toniche (Berg et al., 2010).

Per quanto riguarda la classificazione nosografica delle epilessie in sindromi, è da premettere che con “sindrome epilettica” o meglio “sindrome elettro-clinica” si designa un complesso di manifestazioni cliniche, caratteristiche elettroencefalografiche ed elementi epidemiologici che concorrono a definire un patologia distinta e clinicamente riconoscibile, con implicazioni di tipo terapeutico e prognostico, oltreché di caratterizzazione con studi neuropsicologici e di *neuroimaging* (Panayiotopoulos, 2010). Fatta questa premessa, la classificazione sindromica del 1989 distingue tre categorie principali di sindromi epilettiche a seconda dell'eziologia:

- (1) Idiopatiche: a causa non identificata, o meglio denominazione da riferire a sindromi prive di causa sottostante diversa da un'ipotetica predisposizione genetica.
- (2) Sintomatiche: espressione di una *noxa* patogena conosciuta a carico del sistema nervoso centrale, come l'encefalopatia ipossico-ischemica perinatale, l'encefalopatia vascolare ischemica cronica, neoplasie etc.
- (3) Criptogeniche: espressione di una *noxa* patogena presunta ma non individuata (dagli esami di neuroimmagine) a carico del sistema nervoso centrale (Jallon, 2006).

Un prospetto della classificazione sindromica è visibile in Figura 2.

A seguito degli avanzamenti delle conoscenze in ambito genetico e neuroradiologico, la più recente *task force* ILAE ha formulato una nuova proposta di classificazione sindromica (Berg et al., 2010) con significative variazioni rispetto a quanto stilato nel 1989. I concetti di classificazione eziologica (idiopatico/sintomatico/criptogenico) sono stati rispettivamente sostituiti categorizzando le epilessie nel modo seguente:

- (1) Genetiche: sindromi in cui l'epilessia è direttamente conseguente a un difetto genetico (i.e. canalopatia, deficit di Glut 1), e le crisi sono l'elemento caratterizzante la patologia.
- (2) Strutturali-metaboliche: caratterizzate dalla presenza di una distinta condizione o patologia strutturale o metabolica che, sulla base di evidenze clinico-sperimentali, si è dimostrato essere associata a una ridotta soglia epilettogena.

Syndromic classification of the ILAE 1989 ³	
1. Localisation-related (focal, local, partial) epilepsies and syndromes	
1.1 Idiopathic (with age-related onset)	At present, the following syndromes are established, but more may be identified in the future: <ul style="list-style-type: none"> • Benign childhood epilepsy with centrotemporal spike • Childhood epilepsy with occipital paroxysms • Primary reading epilepsy
1.2 Symptomatic	<ul style="list-style-type: none"> • Chronic progressive epilepsy partialis continua of childhood (Kozhevnikov syndrome) • Syndromes characterised by seizures with specific modes of precipitation • Temporal lobe epilepsies • Frontal lobe epilepsies • Parietal lobe epilepsies • Occipital lobe epilepsies
1.3 Cryptogenic	Cryptogenic epilepsies are presumed to be symptomatic and the aetiology is unknown. This category thus differs from the previous one by the lack of aetiological evidence
2. Generalised epilepsies and syndromes	
2.1 Idiopathic (with age-related onset – listed in order of age)	<ul style="list-style-type: none"> • Benign neonatal familial convulsions • Benign neonatal convulsions • Benign myoclonic epilepsy in infancy • Childhood absence epilepsy (pyknolepsy) • Juvenile absence epilepsy • Juvenile myoclonic epilepsy (impulsive petit mal) • Epilepsy with grand mal (GTCS) seizures on awakening • Other generalised idiopathic epilepsies not defined above • Epilepsies with seizures precipitated by specific modes of activation
2.2 Cryptogenic or symptomatic (in order of age)	<ul style="list-style-type: none"> • West syndrome (infantile spasms, Blitz-Nick-Salaam Krampfe) • Lennox-Gastaut syndrome • Epilepsy with myoclonic-astatic seizures • Epilepsy with myoclonic absences
2.3 Symptomatic	<p>2.3.1 Non-specific aetiology</p> <ul style="list-style-type: none"> • Early myoclonic encephalopathy • Early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst • Other symptomatic generalised epilepsies not defined above <p>2.3.2 Specific syndromes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Epileptic seizures may complicate many disease states. Under this heading are included diseases in which seizures are a presenting or predominant feature

Figura 2. Classificazione delle sindromi epilettiche. Viene riportato il resoconto della Commissione per la Classificazione e la Terminologia ILAE del 1989. Sono qui riportate solo le sindromi epilettiche focali e generalizzate; la classificazione originale continua con due ulteriori categorie, “epilessie e sindromi la cui natura, focale o generalizzata, risulta indeterminata” e “sindromi speciali”. Modificato da Panayiotopoulos, 2010.

(3) Sconosciute: a causa non nota, potrebbero essere fondamentalmente genetiche o riconoscere un substrato metabolico-strutturale alla base (Berg et al., 2010).

Inoltre, rispetto alla classificazione sindromica del 1989, con chiara impronta eziologica, la classificazione ILAE del 2010 assume una deriva nettamente elettro-clinica, sottraendo all'eziologia un ruolo dirimente nella caratterizzazione. Vengono individuate le sindromi epilettiche, raggruppate in rapporto alla tipica età di insorgenza; tutte le forme a causa strutturale-metabolica sono raggruppate come “epilessie non sindromiche”; e infine si

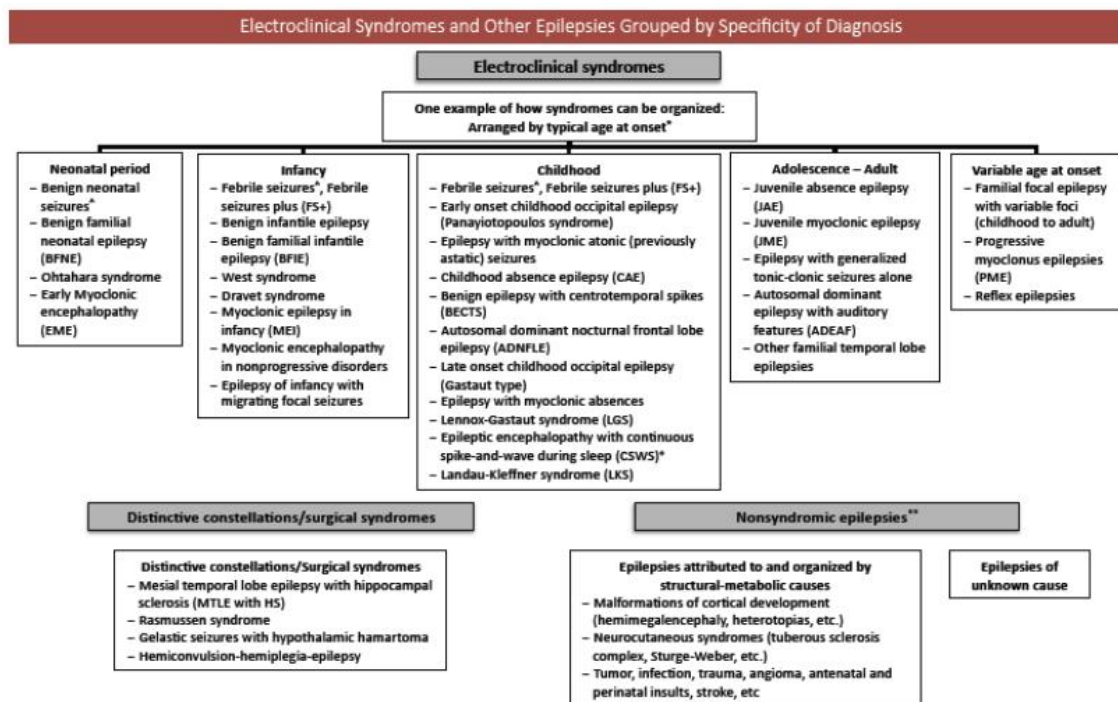


Figura 3. Nuova proposta di classificazione delle sindromi epilettiche. Si riportano le elaborazioni del più recente report della Commissione per la Classificazione e la Terminologia ILAE, pubblicato nel 2010. Si vedano il testo e la figura per un confronto con la precedente classificazione ILAE del 1989. Adattato da Berg et al., 2010.

identificano 4 “costellazioni” (epilessia del lobo temporale con sclerosi ippocampale, epilessia di Rasmussen, crisi gelastiche con amartoma ipotalamico, emiconvulsione-emiplegia-epilessia), una sorta di “via di mezzo” fra vere e proprie sindromi ed epilessie non sindromiche (Figura 3) (Berg et al., 2010).

Attività EEG epilettiforme

Per un’introduzione circa la metodica elettroencefalografica, si rimanda un sottoparagrafo successivo (“EEG”) interamente dedicatele. Mi sembra però opportuno introdurre in questa fase le principali caratteristiche elettroencefalografiche delle anomalie epilettiformi, dato che queste sono di importanza rilevante nella diagnosi di alcune sindromi specifiche, specialmente nell’ambito delle epilessie generalizzate idiopatiche, e più ancora nell’epilessia mioclonica giovanile. I principali grafoelementi elettroencefalografici cui viene attribuito significato epilettiforme sono rappresentati da:

- (a) Punta (*spike*): grafoelemento transiente, chiaramente distinto dall’attività di fondo, con apice puntuto e componente principale negativa, di ampiezza variabile (50-100 μ V) e durata compresa fra i 20 e 70 ms.

- (b) Onda aguzza (*sharp wave*): grafoelemento transiente, chiaramente distinto dall'attività di fondo, con apice puntuto, componente principale negativa, ampiezza compresa fra 100 e 200 μ V, e durata tra i 70 e i 200 ms.
- (c) Complesso di polipunte: sequenza di due o più punte.
- (d) Complesso punta-onda (lenta): parossismo caratteristico, costituito da una punta seguita da un'onda lenta; tipico se a frequenza di 3 Hz, atipico se di frequenza inferiore a 3 Hz.
- (e) Complesso polipunta-onda (lenta): polipunte seguite da onda lenta.
- (f) Complesso onda aguzza-onda lenta: complesso caratterizzato da un'onda aguzza seguita da un'onda lenta: tale complesso, per definizione e differenziazione dalle punta-onda tipiche, deve avere una frequenza < 3 Hz (Noachtar et al., 1999).

EPILESSIA MIOCLONICA GIOVANILE

Definizione, epidemiologia, caratteristiche elettro-cliniche

L'epilessia mioclonica giovanile (JME, dalla denominazione anglosassone di *Juvenile Myoclonic Epilepsy*), o sindrome di Janz, dall'epilettologo che per primo ne descrisse con precisione le manifestazioni cliniche più salienti (Janz & Christian, 1957), è una delle epilessie generalizzate idiopatiche (ora epilessie generalizzate genetiche) più frequenti (Roger et al., 2005).

Una sua precisa e succinta definizione, ratificata ufficialmente da parte dell'ILAE, così recita: "L'epilessia mioclonica giovanile si manifesta durante la pubertà, ed è caratterizzata da crisi con scosse miocloniche bilaterali, aritmiche, singole o ripetitive, che possono essere causa di un'improvvisa caduta per il paziente. Non si denotano alterazioni dello stato di coscienza durante le crisi. Il disturbo potrebbe presentare carattere di ereditarietà, e non sono evidenti differenze di prevalenza fra i due sessi. Spesso i pazienti presentano crisi generalizzate tonico-cloniche, e meno frequentemente crisi tipo assenza. Le crisi si manifestano sovente dopo il risveglio, e sono spesso precipitate dalla deprivazione di sonno. I tracciati EEG intercritici e critici mostrano complessi punta-onda generalizzati, rapidi e spesso irregolari, frammisti a complessi polipunta-onda. Non esiste una stretta correlazione di fase tra le anomalie EEG e le scosse miocloniche. I pazienti sono

frequentemente fotosensibili, e la risposta alle terapie appropriate è buona” (Commission, 1989).

Dal punto di vista epidemiologico, le stime di prevalenza della JME si attestano su 1:1000 individui, ed essa rappresenta circa il 10% di tutte le epilessie (Panayiotopoulos et al., 1994; Genton et al., 2000); tali cifre potrebbero in realtà sottostimare la reale prevalenza della sindrome nella popolazione generale, dal momento che molti pazienti rimangono esclusivamente affetti da crisi miocloniche e non si recano dal medico. La diagnosi di JME viene solitamente effettuata in pazienti con anamnesi neurologica negativa. L'esordio delle manifestazioni cliniche della sindrome mostra una chiara correlazione con l'età, nei termini di una distribuzione unimodale con picco compreso tra gli 8 e i 26 anni (Roger et al., 2005). Le assenze, se presenti, iniziano tra i 5 e i 16 anni; le crisi miocloniche seguono a distanza di 1-9 anni, e è stato stimato più del 75% dei pazienti presenta le prime crisi tra i 12 e i 18 anni. Le crisi generalizzate tonico-cloniche compaiono solitamente a qualche mese di distanza dalla manifestazione delle scosse miocloniche (Panayiotopoulos, 2010).

Come sopra accennato, tre sono le tipologie di crisi che caratterizzano clinicamente l'epilessia mioclonica giovanile: scosse miocloniche al risveglio, crisi generalizzate tonico-cloniche nella maggioranza dei pazienti, e crisi tipo assenza tipica in porzione minore di pazienti (Grnewald & Panayiotopoulos, 1993). Il sintomo cardinale, la cui presenza è imprescindibile per effettuare la diagnosi, è costituito dalle crisi miocloniche: brevi, (<100 ms), aritmiche, improvvise e involontarie (*jerks*) contrazioni di un muscolo, gruppo di muscoli o diversi gruppi di muscoli, con correlati identificabili agli esami strumentali. Tali mioclonie si presentano sotto forma di singoli eventi, o come brevi *clusters* aritmici, e non sono associati a rottura del contatto con l'ambiente; sono solitamente limitati alla muscolatura prossimale e distale degli arti superiori, spesso interessano soltanto le dita e tendono a far apparire il paziente impacciato, o a fargli cadere ciò che regge con le mani (Delgado-Escueta & Enrile-Bacsal, 1984). Già nel primo report di Janz del 1957, si specificava che le mioclonie, avvenendo pressoché esclusivamente di mattina, erano connesse con la caduta del rasoio, dello spazzolino da denti o della tazza del caffè del paziente (Janz & Christian, 1957). Talora, le crisi miocloniche possono interessare anche gli arti inferiori, causando anche caduta improvvisa, ma sempre in assenza di perdita di coscienza (Roger et al., 2005). Benché alcuni pazienti descrivano le scosse come unilaterali, registrazioni video-EEG mostrano in realtà che esse interessano entrambi i lati (Oguni et al., 1994). La manifestazione delle crisi presenta una crono-dipendenza caratteristica, avvenendo pressoché costantemente nella mezzora che segue il risveglio mattutino

(Delgado-Escueta & Enrile-Bacsal, 1984; Roger et al., 2005; Panayiotopoulos, 2010). Per quanto riguarda le crisi tonico-cloniche, interessano circa il 80-95% dei pazienti (Genton et al., 2000; Roger et al., 2005), e rappresentano solitamente il sintomo che induce i pazienti a cercare l'aiuto del medico; non sono frequenti nella storia naturale della malattia, manifestandosi una o due volte l'anno, raramente in *cluster*, sino a scomparire dopo l'impostazione di una terapia anticomiziale ottimale. Si manifestano solitamente nel medesimo periodo della giornata delle mioclonie; di solito, seguono un *cluster* di mioclonie più prolungato e intenso del normale, sino a quando le scosse miocloniche si fondono con la fase tonica iniziale della crisi tonico-clonica, secondo la caratteristica sequenza clonico-tonico-clonica (Roger et al., 2005). Le crisi tipo assenza non sono una caratteristica costante della JME, ed è stato osservato che ne interessano poco più del 30% dei pazienti; sono brevi, e non frequenti, talora non percepite dai pazienti, pur in presenza di grafoelementi EEG patologici di durata superiore a 3 secondi (Panayiotopoulos et al., 1989). È stata identificata una serie di fattori precipitanti le crisi miocloniche mattutine: i principali sono la deprivazione di sonno e la precedente assunzione di etanolo (Panayiotopoulos, 2010). Sono stati inoltre riportati come fattori precipitanti tasks cognitivi (concentrazione, calcolo, lettura) e motori delle mani (da Silva Sousa, 2005a, 2005b). Aspetto caratteristico, che verrà ampliato nel seguente capitolo, è la peculiare sensibilità dei pazienti JME alla stimolazione luminosa intermittente utilizzata come prova di attivazione EEG. Da una serie di studi (vedi oltre) è emerso che circa il 30% dei pazienti sarebbe fotosensibile, ma sembra che tale percentuale rappresenti una sottostima del reale fenomeno; in un recente studio (Appleton et al., 2000) che ha impiegato una metodica di stimolazione più provocativa, il 90% dei pazienti JME è risultato sensibile alla fotostimolazione. Dal punto di vista dell'EEG, la più frequente anomalia dell'EEG inter-critico è rappresentata dai complessi tipo polipunta-onda generalizzati a 3-6 Hz, con instabilità della frequenza intra-scarica e con frequente frammentazione (Figura 4). Un terzo dei pazienti può presentare anomalie focali tipo punta, onda lenta, e complessi punta-onda. Il correlato elettroencefalografico caratteristico di una crisi mioclonica è invece uno scoppio generalizzato di polipunte-onda bilaterale, sincrono, simmetrico e della durata di pochi secondi, che precede immediatamente una scossa mioclonica registrata a livello delle derivazioni elettromiografiche (Panayiotopoulos, 2010). All'elettromiografia si può notare come la scossa mioclonica tipica della JME sia un mioclono positivo, essendo caratterizzata da una brusca contrazione (e non dalla brusca cessazione di contrazione) di un muscolo o gruppo di muscoli. Il correlato caratteristico è rappresentato da potenziali mono- o polifasici della durata di 20-120 ms, seguiti da una transitoria contrazione tonica o da un'atonia (Panayiotopoulos et al., 1994). Gli studi di

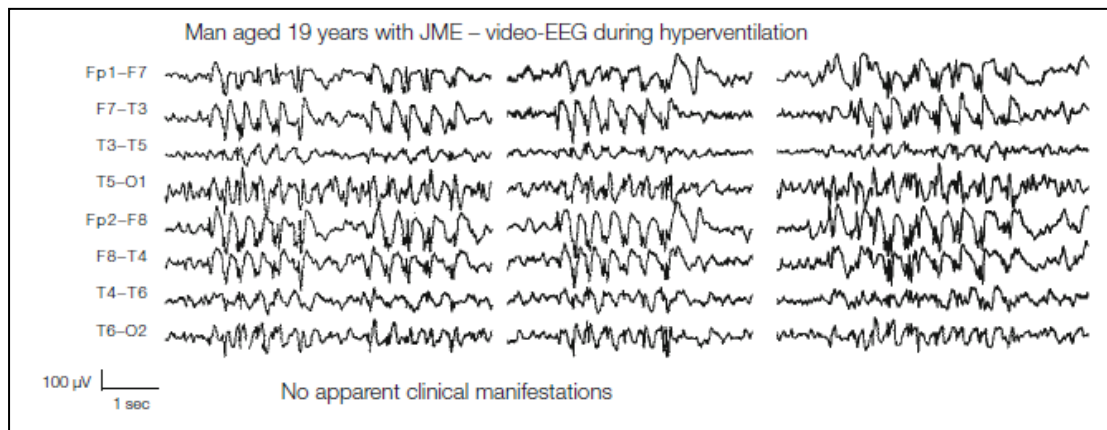


Figura 4. Anomalie intercritiche nell'epilessia mioclonica giovanile.

La figura mostra anomalie intercritiche, in assenza di manifestazioni cliniche, in un paziente JME durante iperventilazione. Si notino i caratteristici complessi punta/polipunta-onda a frequenza compresa fra 3 e 6 Hz, solitamente prevalenti sulle aree anteriori (Fp2-F8, Fp1-F7, F8-T4, F7-T3). Rielaborato da Panayiotopoulos, 2010.

neuroimaging convenzionale (TC, RM) non mostrano per definizione anomalie morfologiche (Roger et al., 2005; Panayiotopoulos 2010).

Genetica e Fisiopatologia

Vi sono attualmente ampie evidenze circa il fatto che l'epilessia mioclonica giovanile sia una sindrome geneticamente determinata, e tale concetto è riflesso anche nel suo inserimento tra le "epilessie generalizzate genetiche" nell'ultima classificazione sindromica ILAE (Gardiner, 2005; Berg et al., 2010). Come in tutte le forme di IGE ad oggi studiate, si ritiene che un meccanismo di trasmissione su base poligenica e penetranza variabile renda conto della maggior parte dei casi (oltre a quelli presumibilmente derivanti da mutazioni *de novo*). Nel corso degli ultimi anni sono state identificate famiglie con un ampio numero di casi, e ciò ha consentito di proporre, almeno per questi tipi specifici di JME, due principali meccanismi di trasmissione: un'ereditarietà di tipo mendeliano, autosomico-dominante a penetranza variabile, che renderebbe conto del 49% delle famiglie JME, con tratti clinici ed elettroencefalografici trasmessi verticalmente in più generazioni; nel restante 51% dei casi, invece, il meccanismo di ereditarietà sarebbe complesso, dovuto alla presenza di polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) o microdelezioni a carico di più geni, ciascuno con contributo da ridotto a modesto al rischio globale di manifestare JME (Delgado Escueta et al., 1990, 2013). Altri modelli proposti includono la teoria dei due loci con un gene dominante sul cromosoma 6p e un gene recessivo ancora non noto, o persino che la possibilità che genotipi differenti, con differenti modelli di ereditarietà, siano sottesi al

fenotipo JME (Delgado Escueta et al., 2013). A partire da studi famiglie con meccanismo di ereditarietà mendeliana, e supposte mutazioni monogeniche, sono stati individuati 5 geni candidati: CACNB4 (subunità dei canali del Ca^{2+}), CaSR (recettore sensibile al Ca^{2+}), GABRA1, GABRD (subunità del recettore $GABA_A$), ed EFHC1, codificante per il gene della mioclonina 1, proteina intracellulare neurone-specifica (Escayg et al., 2000; Kapoor et al., 2008; Cossette et al., 2002; Dibbens et al., 2004, Suzuki et al., 2004). Il riscontro di alterazioni a carico di segmenti codificanti proteine canale ben si inserisce nel contesto di una sindrome epilettica, verosimilmente caratterizzata da alterazioni a carico dei meccanismi corticali di eccitazione ed inibizione. Tuttavia, ha suscitato particolare attenzione la scoperta della mutazione di EFHC1 o mioclonina 1, di cui sono stati recentemente evidenziati vari ambiti di attività: apoptosi, motilità ciliare durante il neurosviluppo, formazione dei plessi corioidei, regolazione della divisione cellulare e della migrazione neuronale; di nota, tutte le funzioni della mioclonina 1 appaiono correlare con il corretto sviluppo del sistema nervoso centrale, e si comprende come una sua mutazione in pazienti JME potrebbe condurre ad alterata migrazione neuronale e a micro-disgenesie corticali durante il processo di maturazione, con conseguente formazione di circuiti epilettogeni anomali (De Nijs et al., 2013). Infine, sono stati recentemente riportati SNPs di rilievo in possibili alleli di suscettibilità alla JME coinvolti nel meccanismo di ereditarietà poligenica: bromo-dominio 2, connessina 36 e enzima malico 2 (Delgado-Escueta et al., 2013).

In sintesi, non vi sono ancora dati sufficienti per proporre una teoria unificante sul meccanismo di ereditarietà della JME; sono in atto studi volti ad ottenere informazioni più precise mediante l'impiego di tecnologie di sequenziamento del DNA (*genome-wide* o *exome-wide*).

Come sopra menzionato, nei pazienti JME, secondo la definizione originale e i concetti che fin dall'inizio l'hanno fatta includere tra le IGE, non dovrebbero emergere alterazioni neuroradiologiche evidenti; ciò è tutt'ora vero valutando neuroimmagini standard e di routine (Commission, 1985). Tuttavia, grazie allo sviluppo di tecniche di neuroimmagine dotate di alta sensibilità, è stato possibile identificare negli ultimi anni una serie di lievi anomalie strutturali e funzionali nella JME che possono aiutare a far luce sulla sua fisiopatologia. I primi dati circa una differenza fra pazienti JME e controlli in esami di *imaging* risalgono al 1996, quando Swartz e colleghi hanno evidenziato tramite PET una ridotta captazione di ^{18}F -deossiglucosio a livello del nucleo caudato e delle aree premotorie e prefrontali dorso-laterali bilateralmente (Swartz et al., 1996). Successivamente, Koepp e collaboratori, utilizzando flumazenil (antagonista del recettore delle benzodiazepine sui

recettori GABA_A) marcato con ¹¹C in uno studio PET, hanno individuato un aumento della distribuzione del recettore GABA_A a livello dei lobi frontali di pazienti JME, interpretato come dovuto o alla presenza di foci di micro-disgenesia, o a una modifica compensatoria secondaria a ipereccitabilità corticale (Koepp et al., 1997). L'utilizzo di tecniche RM quantitative, che consentono di evidenziare alterazioni anche lievi nel rapporto sostanza grigia/sostanza bianca a livello di specifici volumi di interesse, ha consentito di identificare una serie di anomalie a carico dei pazienti JME, prevalentemente a livello delle aree frontali. Inizialmente, Woermann e colleghi hanno rilevato, tramite confronti con statistica parametrica *voxel-based*, un aumento della sostanza grigia a livello delle aree mesio-frontali in un quarto dei pazienti JME analizzati, rispetto ai controlli sani; in aggiunta, alcuni pazienti presentavano alterazioni anche a carico di altre aree cerebrali: incremento della sostanza grigia temporo-polare, mesio-parietale, e decremento nelle regioni fronto-polare e fronto-mesiale (Woermann et al., 1999). Uno studio successivo è ricorso a una tecnica denominata *voxel-based morphometry* (VBM), che consente di rilevare differenze regione-specifiche nella composizione tissutale cerebrale tramite confronto voxel per voxel, in maniera automatica e non operatore-dipendente. Mediante tale metodica, Kim e collaboratori hanno replicato il riscontro di un aumento della sostanza grigia a livello della regione mesio-frontale superiore bilateralmente, cui si è aggiunta una riduzione della sostanza grigia bilateralmente nel contesto del talamo ventro-laterale (Kim et al., 2007). Sulla base di tutti questi risultati, è stato proposto da più autori che l'anomalia fisiopatologica cruciale nei pazienti JME fosse proprio una disfunzione a carico del circuito talamo-corticale frontale (Woermann et al., 1999; Kim et al., 2007), che ben si accorderebbe con il ruolo di tali strutture, mostrato in studi di elettrofisiologia su modelli animali (Blumenfeld, 2005) nella generazione delle anomalie tipo punta/polipunta-onda generalizzata. Ulteriori conferme circa la presenza di disfunzioni talamo-corticali sono fornite anche da studi di spettroscopia con tecnica di risonanza magnetica, che hanno indicato ridotte concentrazioni di N-acetil-aspartato sia a livello talamico (Mory et al., 2003) che a livello delle cortecce prefrontali in pazienti JME (Simister et al., 2003). In un lavoro successivo, Deppe e colleghi hanno valutato l'integrità del circuito talamo-corticale frontale in pazienti JME indagando la connettività strutturale, mediante la cosiddetta trattografia o imaging con tensore di diffusione (DTI), con magnete a 3T; in pazienti JME, essi hanno evidenziato una riduzione dell'anisotropia frazionale (misura della densità di fibre di connessione) a livello del circuito talamo-corteccia prefrontale, assente in controlli sani e in pazienti affetti da epilessia focale non sintomatica; inoltre, l'entità del decremento di connettività sembrava correlare con la frequenza delle crisi generalizzate tonico-cloniche (Deppe et al., 2008). Parallelamente, Pulsipher e colleghi,

tramite metodiche RM quantitative non-DTI, hanno osservato riduzione bilaterale del volume talamico e una maggior quantità di liquido cefalo-rachidiano frontale in pazienti JME rispetto a controlli sani e a pazienti affetti da epilessia benigna dell'infanzia con punte centro-temporali; tali alterazioni sembravano inoltre correlare con la ridotta performance dei pazienti JME in una batteria di test neuropsicologici atti a valutarne le funzioni esecutive (Pulsipher et al., 2009). La conferma di alterazioni micro-strutturali del circuiti corticali frontali, e della loro correlazione con il riscontro di disfunzioni cognitive in pazienti JME, già caratterizzate in precedenza (Sonmez et al., 2004), è venuta anche da studi successivi. O'Muircheartaigh e colleghi hanno applicato un approccio di *neuroimaging* multimodale, raccogliendo dati sia volumetrici che trattografici (DTI). Essi hanno identificato una riduzione dei volumi di sostanza grigia a carico dell'area motoria supplementare e della corteccia cingolata posteriore; tali risultati morfometrici correlavano con i riscontri in trattografia, che mostravano una riduzione corrispondente dell'anisotropia frazionale a carico della sostanza bianca del corpo calloso a partenza dalle medesime aree. Inoltre, la riduzione della anisotropia frazionale dell'area motoria supplementare correlava anche con la ridotta performance dei pazienti JME in test neuropsicologici valutanti le funzioni esecutive (O'Muircheartaigh et al., 2011).

Proseguendo le indagini circa le alterazioni cortico-talamiche in coorti JME, un altro studio, volto ad analizzare specificamente la connettività dell'area motoria supplementare tramite DTI, ha replicato la riduzione di connettività strutturale a partenza da quest'area, suggerendo che fosse sottesa a una riduzione numerica e volumetrica dei componenti della sostanza bianca (Vulliemoz et al., 2011). Successivamente, i risultati circa una riduzione di connettività strutturale nella JME sono stati estesi a una varietà di altre regioni, oltre all'area motoria supplementare e alla corteccia cingolata posteriore: vi è stato il riscontro di ridotta anisotropia frazionale a carico della corona radiata anteriore e superiore bilateralmente, del ginocchio e del corpo del corpo calloso, e in tratti multipli di sostanza bianca nei lobi frontali (Kim et al., 2012). La conferma di anomalie a carico del talamo è stata invece ribadita da O'Muircheartaigh e colleghi in un ulteriore studio, che prevedeva la valutazione tanto della connettività strutturale (mediante DTI) quanto di quella funzionale, impiegando la risonanza magnetica funzionale (fMRI – vedi infra per dettagli metodologici). È stata evidenziata una relativa atrofia del fascio talamo-corticale anteriore, che connette i nuclei ventrali anteriori/ventrali laterali del talamo con la aree motoria primaria, motoria supplementare e pre-supplementare (Figura 5). Un'analisi di connettività funzionale tra le suddette aree, in relazione a un task di fluenza verbale fonemica, ha mostrato un'anomala coerenza funzionale tra aree frontali e talamo, a livello delle medesime aree per cui era stata

dimostrata un'alterata connettività strutturale (O'Muirheartaigh et al., 2012). Le alterazioni di connettività evidenziate non si fermano qui: il medesimo gruppo, in uno studio fMRI, ha identificato anche una iperconnettività funzionale tra il sistema motorio e i circuiti cognitivi fronto-parietali, con coattivazione tra sistema motorio e aree cognitive durante un task neuropsicologico che prevedeva un incremento progressivo di difficoltà (Vollmar et al., 2011). Infine, un'analisi di connettività strutturale mediante DTI e tecniche di parcellazione avanzate ha mostrato: un aumento della connettività tra circuiti prefrontali cognitivi e corteccia motoria, un aumento della connettività tra corteccia occipitale e area motoria supplementare, e una riduzione di connettività tra aree prefrontali e fronto-polari (Vollmar et al., 2012).

In sintesi, dagli studi con tecniche avanzate di *imaging* si può dedurre che le principali evidenze mostrino come nella JME viga una netta alterazione del circuito talamo-corticale frontale di controllo motorio, verosimile *core* fisiopatologico; tale alterazione fondamentale inoltre sembra inserirsi nel contesto di una varietà di anomalie di connettività, bilaterali e

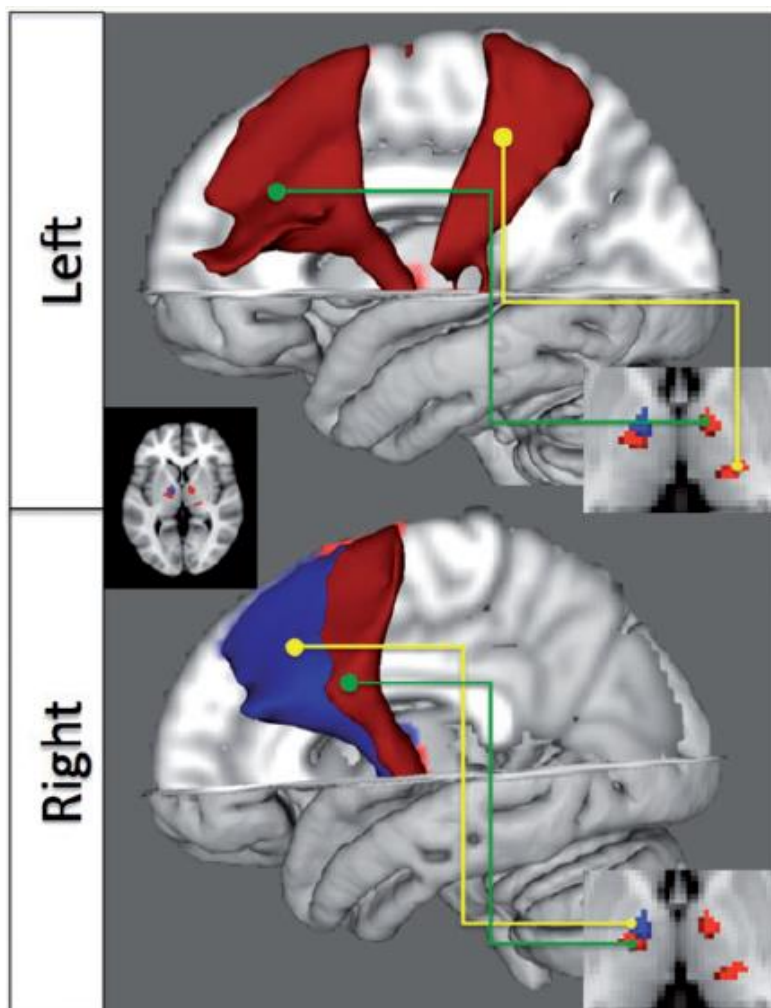


Figura 5. Alterazioni della connettività strutturale talamo-corticale in pazienti JME.

La Figura mostra fasci di fibre, di pertinenza dei circuiti talamo-corticali di pazienti affetti da JME. Emostrano una riduzione della connettività strutturale definita su base trattografica (blu: $P < 0.05$ corretta per confronti multipli; rosso: $P < 0.05$ non corretta) rispetto a controlli sani. Le immagini in sovra-impressione sul lato destro mostrano le regioni talamiche da cui originano i fasci talamo-corticali alterati. Tratto da O' Muirheartaigh et al., 2012).

coinvolgenti il corpo calloso, tra aree cognitive frontali e aree motorie, e tra aree motorie e aree parieto-occipitali posteriori. D'interesse, per quanto riguarda soggetti JME fotosensibili, risulta peraltro l'incremento della connettività tra corteccia occipitale e area motoria supplementare, che potrebbe essere ritenuta il substrato tramite cui la stimolazione luminosa riuscirebbe indurrebbe scariche epilettiformi fronto-centrali (vedi infra-); ciò si aggiunge all'evidenza di iperconnettività strutturale mostrata in pazienti IGE fotosensibili a carico varie aree: talamo, precuneo, giro fusiforme occipitale e corteccia precentrale (Groppa et al., 2012).

FOTOSENSIBILITÀ

Definizione

Si definisce fotosensibilità la presenza di un tratto elettroencefalografico anomalo denominato “risposta fotoparossistica” (PPR), e caratterizzato dalla comparsa di attività epilettiforme in risposta a stimolazione luminosa (Kasteleijn-Nost Trenité et al., 2001; Fisher et al., 2005b) (Figura 6). I grafo-elementi EEG patologici necessari per fare diagnosi di fotosensibilità sono le anomalie tipo punta/poli-punta, punte-onda o onda lenta intermittente (Fisher et al., 2005b). A seconda della topografia di tali anomalie, in base alla classificazione proposta da Kasteleijn-Nolst e collaboratori (Kasteleijn-Nost Trenité et al., 2001), si distinguono:

- (a) *PPR posteriore, stimolo-dipendente*: localizzata a livello delle regioni occipitali, e caratterizzata dall'insorgenza di potenziali visivi evocati (PEV) anomali, con forma d'onda insolitamente aguzza o ampiezza eccessiva, e frequenza sovrapponibile a quella dello stimolo luminoso o sua armonica; tale tipo di risposta è quella che viene spesso nominata in letteratura come “punte occipitali” (*occipital spikes*).
- (b) *PPR posteriore, stimolo-indipendente*: localizzata anch'essa a livello delle regioni posteriori ma con frequenza non correlata a quella dello stimolo, talora con tendenza ad auto-mantenersi una volta esaurito il treno di stimolazione. Si caratterizza per la presenza di attività teta, delta o francamente epilettiforme, e può evolvere in una crisi epilettica manifesta.

- (c) *PPR generalizzata*: caratterizzata da anomalie tipo poli-punta e/o punta-onda ampiamente estese oltre le aree occipitali; può essere limitata alla durata dello stimolo o presentare tendenza all'auto-mantenimento una volta esaurito il *trigger*.

Queste tipologie di risposta fotoparossistica, come verrà in seguito discusso, rappresentano fondamentalmente un fenotipo epilettico, benché siano identificabili in una ridotta percentuale di soggetti sani (Trojaborg et al., 1992; Gregory et al., 1993). Esse devono essere distinte da due ulteriori fenomeni EEG, privi di significato patologico, che si possono verificare in corrispondenza stimolazione luminosa: (a) il *foto-trascinamento*, caratterizzato da attività EEG regolare, priva di note epilettiformi e alla stessa frequenza degli stimoli luminosi, che termina in sintonia con la fine della stimolazione; e il (b) *mioclono orbito-frontale foto-indotto*, segnale di origine muscolare (rilevabile all'elettromiografia), dovuto attività regolare alla frequenza di stimolazione da parte del muscolo frontale ed orbicolare dell'occhio, e anch'esso privo di significato patologico (Kasteleijn-Nost Trenité et al., 2001).

Non tutti gli autori concordano invece sul significato della PPR posteriore stimolo-dipendente (le cosiddette “punte occipitali”). Nel report di Fisher e colleghi (2005), stilato da parte di una task force della Epilepsy Foundation of America, viene esplicitato nella definizione di risposta fotoparossistica che le punte non dovrebbero essere confinate alle

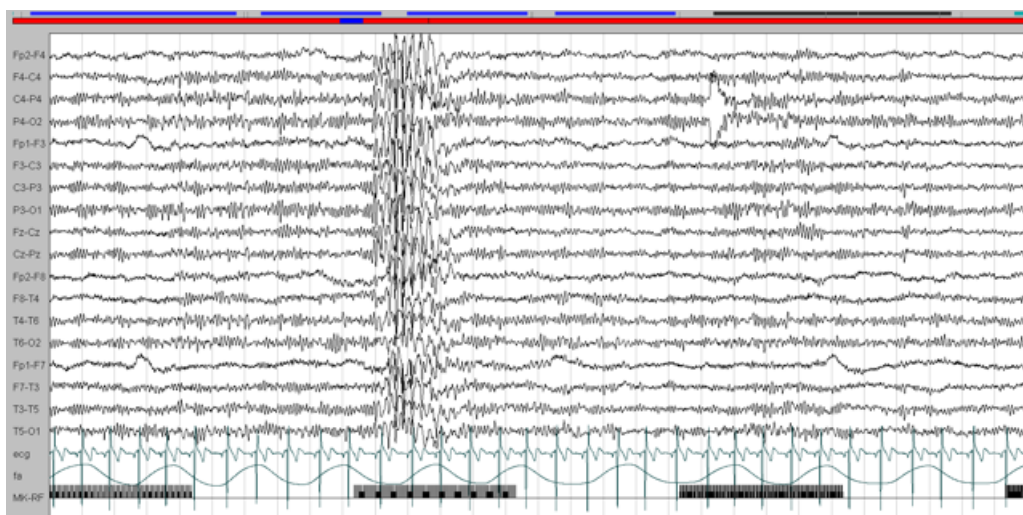


Figura 6. Risposta Fotoparossistica. La Figura mostra la comparsa di PPR generalizzata, costituita da complessi tipo punta/poli-punta onda, durante stimolazione luminosa intermittente. Tratto dall'Archivio della Clinica Neurologica, U.O. Neurologia-Neurofisiopatologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana.

regioni occipitali (Fisher et al., 2005b). Del resto, come si vedrà nel prosieguo, recenti studi di elettrofisiologia hanno portato evidenze a favore di una base fisiopatologica distinta per le punte occipitali rispetto alle altre tipologie di PPR, e privato le prime di qualsiasi significato patologico (Harding & Fylan, 1999; Siniatchkin et al., 2007a).

Storia del fenomeno “fotosensibilità”

Resoconti sporadici che riportavano l'insorgenza di crisi epilettiche in relazione peculiari tipologie di esposizione visiva risalgono all'epoca greco-romana (Newmark & Penry, 1979), mentre il primo report nella letteratura scientifica moderna è attribuibile a Gowers, il quale descrisse il caso di una ragazza colpita da crisi epilettica dopo esposizione improvvisa a luce solare (Gowers, 1885). In tempi successivi, il primo utilizzo di una strumentazione dedicata all'erogazione di stimoli visivi durante l'esecuzione di EEG è da riferire al gruppo francese di Henri Gastaut, che pubblicò nel 1948 uno studio interamente dedicato all'epilessia foto-indotta (Gastaut et al., 1948). A seguito della progressiva diffusione delle televisioni su scala di massa, si è assistito a un susseguirsi di segnalazioni riguardanti l'associazione tra crisi epilettiche e la visione della TV (Fisher et al., 2005b). I primi casi riportati in letteratura riguardano una popolazione pediatrica e risalgono ancora agli anni '50 (Livingston, 1952), mentre il primo studio mirato su pazienti che avevano presentato crisi davanti alla televisione è di nuovo da ascrivere al gruppo di Gastaut (Gastaut et al., 1960). Nel 1980, la proiezione di un programma televisivo di produzione statunitense, “*Captain Powers*”, ha causato una crisi epilettica in uno degli spettatori; la sequenza scatenante era costituita da flash ad alta frequenza di pistole e bersagli, e un suo test in laboratorio su soggetti noti per essere fotosensibili è risultato nella comparsa inequivocabile di anomalie EEG. Nel 1993, una pubblicità in onda su una TV privata del Regno Unito, intitolata “*Golden Wonder, Pot Noodle*”, causò crisi inequivocabilmente documentate in 3 soggetti alla sua prima proiezione. La sequenza incolpata era composta da flashes in rapida successione e con elevati contrasti anch'essi in rapida variazione (Harding & Harding, 1999). A seguito di tale evento, la *Independent Television Commission*, l'ente regolatore del Regno Unito per la proiezione televisiva privata, richiese a esperti epilettologi la produzione di linee guida allo scopo di migliorare le misure di sicurezza riguardanti la proiezione televisiva (Independent Television Commission, 1994); la prima bozza di linee guida, in seguito perfezionata, rimarcava la necessità di evitare la proiezione di *flickers* o pattern alternanti. In parallelo, molteplici segnalazioni venivano riportate a proposito di crisi epilettiche dovute ai

videogiochi, quale il caso *Space Invader* (Rushton, 1981; Jaevons et al., 1981). Nel 1993 si è tenuta la prima consensus conference avente come tema principale l'epilessia indotta da video-games, sotto gli auspici della *British Epilepsy Research Foundation*, il cui resoconto, con relative conclusioni fu pubblicato l'anno successivo (Binnie et al., 1994).

Tuttavia, l'evento con maggior risonanza mediatica su scala mondiale, che per primo ha mostrato come concreti i rischi derivanti dalla proiezione televisiva di sequenze altamente provocative, ha avuto luogo in Giappone nel dicembre 1997. In occasione di una puntata (*Electric Soldier Porygon*) dei *Pocket Monsters* o *Pokèmon*, uno tra i più famosi cartoni animati giapponesi, con stime di visualizzazione in Giappone pari a 10 milioni a puntata (di cui il 55% dei bambini in età scolare), una sequenza di circa 15' diede luogo a crisi documentate in 685 bambini, di cui più di 200 furono trattenuti in osservazione in ambito ospedaliero sino al giorno seguente (Takada et al., 1999). Se le linee guida approvate dalla ITC Britannica fossero state valide in Giappone, è stato stimato che il programma avrebbe contenuto ben 18 contravvenzioni; gli aspetti colpevolizzati riguardavano modifiche di luminanza maggiori di tre per secondo, e soprattutto la presenza di lunghe sequenze di stimoli in cui componenti rosse a luminanza più bassa si alternavano, fotogramma per fotogramma, a 12 Hz, con stimoli a luminanza superiore e lunghezza d'onda nell'intervallo del blu (Harding & Harding, 1999). Quest'episodio, grazie alla sua ampia risonanza mediatica portò alla regolamentazione della questione anche da parte dell'ente Giapponese per le telecomunicazioni, e stimolò anche le Nazioni Unite a diffondere precise linee guida tramite la *International Telecommunications Union* (Harding et al., 2005).

Rilevanza clinica, epidemiologia e cenni eziologici

La presenza di risposta fotoparossistica è stata classificata come manifestazione epilettica nella maggior parte dei primi studi che hanno indagato il fenomeno. Un'ampia revisione di oltre 3500 EEG di soggetti epilettici e 48 EEG di soggetti, effettuata presso il laboratorio di neurofisiologia clinica del *Massachusetts General Hospital* di Boston, ha rilevato la presenza di PPR nell'1% circa di pazienti epilettici e in nessun soggetto sano. Sulla base di questa casistica, gli autori hanno quindi ritenuto opportuno associare il fenomeno fotosensibilità alla condizione di epilessia (Jayakar & Chiappa, 1990), giustificando tale assunto non solo su una base epidemiologica, ma anche per il significato intrinseco alle anomalie EEG stesse

rilevate in soggetti fotosensibili. Altri autori avevano in precedenza identificato un fattore più specifico che potesse predire la presenza di epilessia in un soggetto fotosensibile, come la persistenza delle anomalie EEG oltre la stimolazione luminosa (Reilly et al., 1973). Tuttavia, uno studio successivo ha dimostrato che tale correlazione è più complessa, dipendendo difatti anche dalla presenza o assenza di altre anomalie elettroencefalografiche (Puglia et al., 1992). L'evidenza che risposte fotoparossistiche potessero essere rilevate anche in soggetti sani si è desunta da due studi, pressoché contemporanei, relativi al reclutamento in ambito aeronautico, per il quale la presenza di anomalie epilettiformi rappresenta un criterio di esclusione. Nella casistica di Gregory e collaboratori, che include i dati di 13658 uomini di età tra i 17 e i 25 anni che avevano fatto domanda per l'ingresso nella Royal Air Force britannica, 48 soggetti (0.35%) hanno presentato fotosensibilità (Gregory et al., 1993). Uno studio analogo, che ne rappresenta la controparte danese, ha riscontrato una maggior prevalenza di anomalie EEG durante stimolazione luminosa, il 2.4%, in 5894 soggetti sani (Trojaborg et al., 1992). Stime epidemiologiche derivanti da studi successivi suggeriscono che la risposta fotoparossistica sia da associare a epilessia in circa il 95% dei casi (Covanis, 2005), mentre la prevalenza in una popolazione asintomatica di soggetti sani sembra attestarsi tra 1:300 e 1:4000 (Jabbari et al., 2000; deBittencourt, 2005). I bambini sono più predisposti degli adulti a sviluppare PPR, come riportato da numerosi studi, che hanno dimostrato come 7-8% di bambini apparentemente sani presenti fotosensibilità (Eeg-Olofsson & Peters, 1971; Doose & Waltz, 1993; Verrotti et al., 2002). Il fenomeno sembra inoltre presentarsi con maggior frequenza in soggetti di sesso femminile (F:M 1.5-2.0) rispetto a soggetti maschi appaiati per età e sesso (Quirk et al., 1995; Harding & Harding, 1999), nonostante tra i report in letteratura le crisi epilettiche indotte da videogiochi prevalgano nei maschi, notoriamente più appassionati ai videogiochi delle bambine (Binnie et al., 1994; Harding et al., 2005). In linea con quanto sopra affermato, l'incidenza del fenomeno presenta un picco tra la tarda infanzia e l'inizio dell'adolescenza, con possibilità di scomparsa anche in assenza di terapia tra i 16 e i 30 anni in circa un terzo dei soggetti (Harding et al., 2005).

Vi sono evidenze concrete di una predisposizione genetica alla fotosensibilità. Ancora prima delle indagini di *linkage*, gli studi osservavano una concordanza prossima al 100% in gemelli monozigoti, e venivano avanzate ipotesi di un'ereditarietà autosomico-dominante con penetranza incompleta (Stephani et al., 2004). Il primo studio di *linkage*, pubblicato nel 2005, ha evidenziato due loci genici associati con PPR in 7q32 e in 16p13 in 16 famiglie di pazienti epilettici fotosensibili. In 7q32 sembrano localizzarsi omologhi di geni con ruolo

preponderante nella sincronizzazione corticale e nel controllo degli input sensitivi, come il gene per il recettore metabotropico 8 del glutammato (mGluR8) e il recettore muscarinico 2 per l'acetilcolina; 16p13 invece sembra ospitare due geni con un ruolo nell'epilettogenesi, quali quello per la sinaptogirina e per uno scambiatore Na^+/H^+ (Pinto et al., 2005). Uno studio successivo del medesimo gruppo, condotto su una coorte estremamente più ampia (100 famiglie con tratto PPR) non ha confermato l'associazione con 7q32 né con altri loci identificati da altri gruppi, e ha invece attribuito un ruolo presuntivo a due loci aggiuntivi: 5q35 e 8q21. Da una sotto-analisi, gli autori hanno postulato che alla base della fotosensibilità vi sia una notevole eterogeneità genetica, in cui loci distinti sembrano essere associati a specifiche famiglie con possibili differenze in termini di fenotipo clinico e caratteristiche etniche (de Kovel et al., 2010). Il possibile ruolo svolto dal substrato etnico è stato menzionato anche in altri studi, che hanno sottolineato come nelle etnie caucasiche e medio-orientali sia più frequente il fenomeno fotosensibilità (De Graaf et al., 1980; Obeid et al., 1991), ma non vi sono studi più recenti e con maggior numero di pazienti a supportare tali conclusioni.

Manifestazioni cliniche della risposta fotoparossistica

Mentre i correlati clinici della stimolazione luminosa intermittente in soggetti che non sviluppano PPR possono variare da sintomi visivi lievi (*blurring*, allucinazioni visive semplici), a sintomi autonomici (nausea, vertigine), al mioclono orbito-frontale foto-indotto (Guerrini & Genton, 2004), lo spettro di manifestazioni durante PPR include, oltre ai suddetti, anche sintomi critici di pertinenza epilettica. Questi ultimi comprendono:

- (a) Crisi occipitali foto-indotte: caratterizzate da allucinazioni visive semplici o complesse, *blurring*, o cecità transitoria (si noti che tale sintomatologia si sovrappone ai sintomi visivi talora presenti anche in soggetti non epilettici; il correlato EEG rappresenta il principale strumento per operare una distinzione).
- (b) Crisi miocloniche: solitamente mioclonie palpebrali, (*fluttering/flickering eyelid myoclonia*), più raramente estese a muscoli del capo, tronco o arti.
- (c) Crisi tipo assenza.
- (d) Crisi generalizzate tonico-cloniche.

Vi sono alcune sindromi epilettiche in cui la fotosensibilità assume rilevanza notevole: una in particolare tra le epilessie focali, l'epilessia idiopatica fotosensibile del lobo occipitale

(IPOE), caratterizzata da crisi occipitali foto-indotte e talora secondaria generalizzazione, e due sindromi generalizzate: la sindrome di Jeavons o mioclonie palpebrali con assenze, ma soprattutto, per portata epidemiologica, l'epilessia mioclonica giovanile (Wolf & Goosses, 1986; Panayiotopoulos 2010).

Da una serie di reports pubblicati dal 1957 al 2007, aventi a tema la fotosensibilità in pazienti affetti da JME, le stime di prevalenza di questa appaiono assai variabili, oscillando da un 5% - 8% (Delgado-Escueta & Enrile-Bacsal, 1984; Canevini et al., 1992) sino al 90% (Appleton et al., 2000). Il dato di prevalenza più citato in letteratura appare quello riportato da Wolf & Goosses, che stima approssivamente in 30% la percentuale di pazienti JME fotosensibili (Wolf & Goosses, 1986). La notevole variabilità dei dati di prevalenza della PPR in JME può essere attribuita a differenze (a) nei campioni di pazienti analizzati, in relazione a etnia, età media, sesso e terapia anticomiziale, e (b) nei protocolli di stimolazione luminosa intermittente (SLI - vedi in seguito) impiegati per valutare la fotosensibilità (Kastelejin-Nolst Trenité et al., 2013). Nello studio di Appleton e collaboratori, in cui sono stati raggiunti elevati livelli di prevalenza della PPR (90% dei 61 pazienti JME considerati) è stato impiegato un protocollo potenziato, con SLI mantenuta continuamente per cinque minuti. È stato inoltre osservato che più di un terzo dei pazienti presentava PPR solo dopo 4 minuti di stimolazione prolungata, sottolineando quindi come la fotosensibilità possa essere assai più prevalente di quanto mediamente riportato in letteratura qualora sia utilizzato un protocollo SLI più provocativo (Appleton et al., 2000). Nel caso della JME, inoltre, un altro fattore confondente può essere rappresentato dal momento del giorno in cui viene eseguito l'EEG, in relazione soprattutto alla spiccata crono-dipendenza delle crisi durante le ore mattutine esibita in questa categoria di pazienti; difatti, da uno studio in cui è stata valutata la riproducibilità della PPR confrontando i risultati di EEG eseguiti durante il mattino con quelli eseguiti nel pomeriggio, è emerso che 5 pazienti su 8 perdevano la fotosensibilità rilevata nell'EEG mattutino durante l'EEG pomeridiano (Labate et al., 2007). Infine, un ulteriore fattore che può influenzare i dati di fotosensibilità è la terapia farmacologica; è ampiamente dimostrato che acido valproico, levetiracetam, lamotrigina e clonazepam a dosaggi adeguati sopprimano l'incidenza di PPR nell'ordine di efficacia appena riportato (Covanis, 2005).

Come sopra sottolineato, la prevalenza di fotosensibilità è superiore nei pazienti femmine rispetto a quelli di sesso maschile, e sembra che tale prevalenza globale di genere sia da ascrivere all'effetto trainante dei pazienti JME (Wolf & Goosses, 1986). Durante una PPR generalizzata compaiono sintomi in più del 75% dei casi, rappresentati per lo più da

mioclonie palpebrali, e meno frequentemente da scosse miocloniche generalizzate a carico di altri segmenti corporei (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 1987). Analogamente a quanto accade per le crisi, la deprivazione di sonno e l'alcool accentuano l'incidenza di risposta fotoparossistica (Scollo-Lavizzari & Scollo-Lavizzari, 1974).

Meccanismi della fotosensibilità: ipereccitabilità corticale?

I meccanismi che consentono di spiegare come, a partire da peculiari modalità di stimolazione visiva, si generino crisi epilettiche, non sono tuttora ben delucidati (Fisher et al., 2005b). Una serie di evidenze, ottenute in modelli animali (Menini & Silva Barratt, 1998), e recentemente estese direttamente all'uomo, consentono di affermare che la fotosensibilità è un fenomeno a genesi corticale, probabilmente in sede occipitale. Tra gli studi di epilettologia sperimentale che supportano quest'assunto, uno dei più significativi riguarda l'applicazione di bicucullina, noto pro-convulsivante, a livello della corteccia visiva del coniglio: ciò consente di osservare una progressione continua dai normali potenziali evocati visivi in risposta a flash di luce, a potenziali giganti sino a anomalie epilettiformi, man mano che la scarica epilettica si sviluppa (Ostrach et al., 1984). Tuttavia, la possibilità di predizione dei meccanismi della fotosensibilità umana da parte di tali risultati non è nota.

Come premessa, è da precisare che nella corteccia visiva vige una segregazione spaziale della risposta a specifiche tipologie di stimolo: posteriormente essa risponde alla luce, e man mano che si prosegue anteriormente diviene sensibile ai bordi statici, ai bordi in movimento e a pattern geometrici complessi (Zeki, 1993). Il riscontro che la maggior parte dei pazienti sensibili ai *flickers* luminosi è anche sensibile a pattern di vario tipo (Figura 7) ha consentito di ampliare la ricerca delle basi fisiopatologiche della fotosensibilità, conducendo a rinforzare la teoria che vede la corteccia occipitale come sua sede elettiva di partenza (Wilkins, 1995). La risposta fotoparossistica, evocata dalla SLI, può essere infatti indotta da pattern alternanti di strisce ad elevato contrasto; la risposta a questi ultimi stimoli è di tipo probabilistico, dipendendo dalle proprietà spazio-temporali degli stimoli. Anzitutto, la probabilità di evocazione di una PPR aumenta in maniera direttamente proporzionale alla lunghezza delle strisce. Ciò può essere spiegato, secondo Wilkins e colleghi, dalla localizzazione in sede corticale del *trigger* delle PPR, che probabilmente coinvolge cellule della corteccia visiva con campi recettivi lineari. Esiste inoltre una certa selettività per l'orientamento dei pattern, per cui solo alcuni orientamenti sono in grado di evocare risposte fotoparossistiche; ad esempio, impulsi a grata che si muovono nel campo visivo in

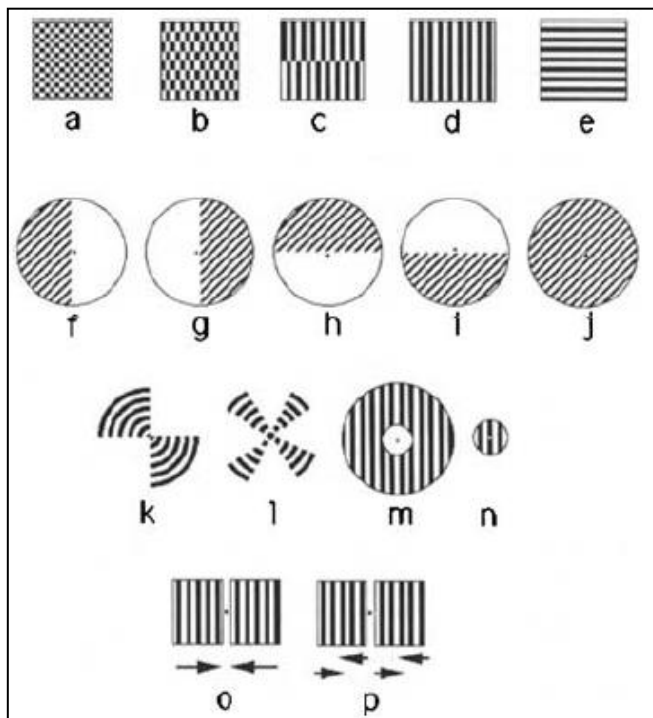


Figura 7. Pattern utilizzati nella valutazione della fotosensibilità.

Da (a) a (p) sono mostrati diagrammi schematici esemplificativi delle tipologie di pattern impiegate come metodica avanzata per la valutazione della fotosensibilità. La luminanza associata alla loro proiezione si attesta su 300 cd/m^2 . La loro dimensione viene progressivamente incrementata sino a quando non si osservano anomalie epilettiformi. Tratto da Wilkins et al., 2004.

senso centripeto non evocano risposte epilettiformi (Binnie et al., 1985), mentre impulsi che cambiano ripetitivamente direzione o fase (i.e., bianco-nero --> nero-bianco) sono molto provocativi. Anche quest'ultimo aspetto, non motivabile da proprietà del sistema visivo periferico, è indicativo di un *trigger* che coinvolge cellule con campi recettivi dotati di orientamento e sensibilità alla direzione, di nuovo in linea con una genesi corticale della PPR. E questo ci aiuterebbe anche a spiegare la provocatività di stimoli la cui direzione muta di continuo: ogni cambio di direzione recluterebbe popolazioni neuronali diverse, ancorché interconnesse. Infine, la probabilità di insorgenza di anomalie pattern-indotte è massima quando entrambi gli occhi sono esposti a pattern con il medesimo orientamento; ciò implica il coinvolgimento di neuroni con proprietà di integrazione binoculare, notoriamente localizzati a livello della corteccia (Wilkins et al., 1979, 2004).

Sulla base di tali evidenze, Wilkins e colleghi hanno ipotizzato che le crisi epilettiche foto-indotte, fenomeni che implicano la sincronizzazione di ampie reti neurali, inizino nei sistemi di processazione delle informazioni visive, in condizioni in cui il livello di eccitazione della corteccia occipitale superi una soglia critica. Ciò che differenzerebbe soggetti fotosensibili e non, in questo contesto, sarebbe la presenza di un persistente iperfunzionamento di alcuni meccanismi di processazione del segnale visivo nei primi, che determinerebbe una maggiore suscettibilità ad ampie sincronizzazioni neurali (Wilkins et

al., 2004). In tal contesto, conferme sull'esistenza di anomalie di elaborazione degli stimoli visivi nei soggetti fotosensibili provengono da studi elettrofisiologici su potenziali evocati visivi (PEV). Studi riguardanti un presunto incremento dell'ampiezza dei potenziali evocativi visivi in pazienti fotosensibili risalgono agli anni '70 (Broughton et al., 1969; Lucking et al., 1970). In epoca più recente, Porciatti e collaboratori hanno dimostrato che, in soggetti fotosensibili, l'aumento di ampiezza dei potenziali evocati, in risposta a un progressivo incremento del contrasto di luminanza per stimoli a bassa frequenza temporale, è anormale, non mostrando una normale saturazione della risposta e raggiungendo livelli abnormi. Tali risultati hanno condotto tali studiosi ad affermare che v'è un'alterazione del meccanismo di *contrast gain control* in pazienti fotosensibili, e che tale alterazione potrebbe rendere ragione della aumentata suscettibilità alle scariche epilettiche dei pazienti fotosensibili. In particolare, si noti che il *contrast gain control* dovrebbe intervenire per stimoli a bassa frequenza temporale e alti contrasti, di cui, significativamente, sono particolarmente ricchi programmi TV e video-giochi: in tal modo, ciò spiegherebbe pertanto la spiccata provocatività di questi ultimi sui soggetti fotosensibili (Porciatti et al., 2000). Ulteriori risultati provenienti da studi di elettrofisiologia hanno confermato l'esistenza di uno spettro di alterazioni a carico della corteccia visiva in pazienti fotosensibili. Siniatchkin e colleghi hanno riscontrato un aumento delle ampiezze delle componenti N75-P100 e P100-N35 dei PEV in soggetti (non epilettici) con PPR generalizzata, confermando pertanto l'esistenza di un'ipereccitabilità a carico della corteccia visiva di pazienti fotosensibili. Essi hanno inoltre evidenziato, nei medesimi soggetti, un fenomeno dell'abitudine più marcato, che ha classicamente il significato di meccanismo protettivo nei confronti di un eccesso di eccitazione (Siniatchkin et al., 2007a).

Studi successivi, condotti su pazienti fotosensibili e affetti da epilessia, hanno ampliato la portata dei precedenti riscontri. Mediante l'utilizzo di una tecnica di evocazione *single-* e *paired-pulse* dei PEV, Strigaro e collaboratori hanno studiato una coorte di 19 pazienti affetti da epilessia generalizzata idiopatica (IGE) e fotosensibili, di cui 11 affetti da JME. Nei pazienti IGE fotosensibili, ma non negli IGE non fotosensibili, sono state dimostrate differenze nella forma del PEV occipitale durante la stimolazione *single-pulse*, a testimonianza dell'eccitazione stimolo-indotta di una più ampia popolazione neuronale della corteccia striata; durante il task con stimolo *paired-pulse*, si sono invece evidenziate differenze nelle curve di recupero post-stimolazione, che indicano un'estesa riduzione dei fenomeni d'inibizione nel sistema visivo e nelle aree centrali (Strigaro et al., 2012). Un'ulteriore dimostrazione dell'ipereccitabilità della corteccia visiva in pazienti IGE fotosensibili è venuta anche da uno studio di stimolazione magnetica transcranica (TMS)

occipitale, che ha mostrato come in questi pazienti vigga una soglia ridotta per l'evocazione di fosfeni, mentre tale riduzione non sembra essere presente in pazienti IGE non fotosensibili (Brigo et al., 2013).

Le informazioni fornite da un lavoro che ha impiegato la magnetoencefalografia (MEG) si sono dimostrate complementari a quanto riscontrato negli studi elettrofisiologici mediante PEV o TMS occipitale. Parra e colleghi hanno valutato la dinamica del segnale MEG durante trials di SLI, e hanno analizzato la dispersione delle varie componenti di frequenza dell'attività del sistema visivo in relazione alla SLI. È emerso che, in occasione di stimolazioni che davano luogo a PPR, si evidenziava un incremento della sincronia di fase tra le armoniche in banda gamma (30-120 Hz) correlate con la frequenza di stimolazione; ciò non accadeva invece per i trials di stimolazione che non evolvevano in PPR, in cui le attività in banda gamma erano caratterizzate da maggior dispersione di fase (Figura 8) (Parra et al., 2002, 2003). Gli autori hanno quindi ipotizzato che l'ipersincronia in banda gamma, nei soggetti fotosensibili, rappresenta il risultato di quell'iperexcitabilità e delle anomalie del processing visivo sopra menzionate; hanno inoltre precisato che essa verosimilmente riflette una perdita di controllo da parte del sistema nervoso sui processi oscillatori ad alta frequenza, che sono normalmente operanti (Varela et al., 2001) per connettere in maniera transitoria gruppi di neuroni corticali funzionalmente correlati. Difatti, analizzando in dettaglio l'evoluzione temporale dei raggruppamenti delle armoniche di banda gamma, gli autori hanno notato che un iniziale incremento della sincronia in banda gamma si verifica sempre all'inizio della SLI; tuttavia, mentre nel soggetto senza PPR sembrano intervenire dei meccanismi che interrompono sul nascere la ipersincronia in banda gamma, tale meccanismo di *gating* non si osserva nel soggetto con PPR, in cui è invece favorito un ampliamento dinamico delle reti neuronali interessate, e in ultima analisi l'insorgenza di una crisi epilettica foto-indotta (Parra et al., 2003). Quale possa essere la/le struttura/e, indiziata maggiormente come responsabile del *gating* nei soggetti sani rispetto a quelli con PPR, non è dato a oggi sapere, né esistono ipotesi solide su tale aspetto. Per inciso, il nostro studio offre alcune ipotesi suggestive al riguardo.

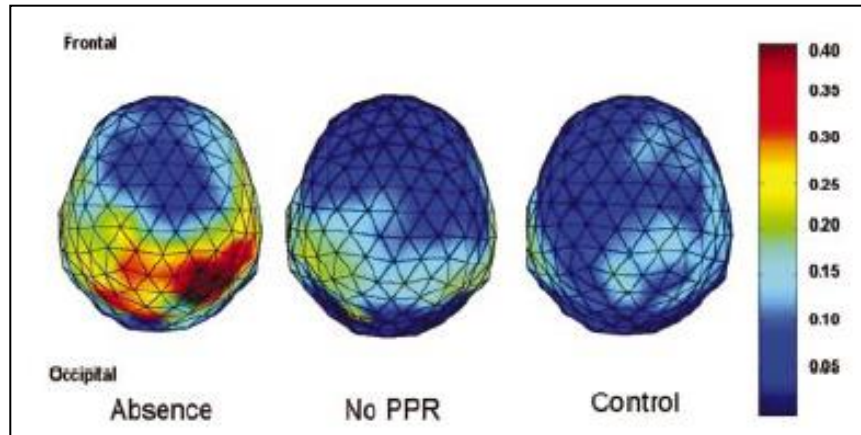


Figura 8. Distribuzione spaziale della sincronia in banda gamma durante fotostimolazione. La Figura mostra la distribuzione spaziale (sullo scalpo) delle modifiche di un indice di sincronia di banda gamma, rPCI (relative Phase-Clustering Index) in relazione alla SLI. Si noti il notevole incremento della sincronia delle armoniche gamma a livello delle aree occipito-parietali (tonalità rossa), nel caso in cui la stimolazione luminosa evochi PPR con crisi tipo assenza, rispetto ai *trials* non seguiti da PPR. Tratto da Parra et al., 2003.

Un altro anello mancante che rimane da elucidare, e che assume rilevanza fondamentale quando parliamo di pazienti affetti da JME, è come, a partire da questo substrato di ipereccitabilità occipitale in risposta alla SLI, si generino crisi miocloniche, a componente inequivocabilmente motoria. Evidenze da modelli animali suggeriscono difatti che le aree visive non siano le uniche coinvolte nella genesi della PPR; nel modello di babuino fotosensibile *Papio Papio*, le scariche epilettiformi sono a frequente origine frontale (Menini & Silva Barrat, 1998). Occasionalmente, si riscontra anche in alcuni pazienti -ma non JME- un'origine frontale delle crisi in risposta a stimolazione visiva (Takasaka et al., 1989), anche se è più frequente osservare una progressione dalle regioni posteriori a quelle anteriori (Matsuoka, 1990). Studi MEG hanno evidenziato come, durante la comparsa di PPR da videogiochi, vi fosse una prevalenza di dipoli nelle aree posteriori, ma venissero rilevati dipoli aggiuntivi anche a carico dell'area motoria supplementare, delle regioni peri-silviane e del lobo temporale mesiale (Inoue et al., 1999). Lo stesso studio sopra riportato di Parra e colleghi ha evidenziato che l'eccesso di sincronizzazione delle armoniche gamma in corrispondenza di PPR non è limitato alle regioni posteriori, ma interessa anche le regioni parietali, temporali e centrali (Parra et al., 2003).

La spiegazione più intuitiva del coinvolgimento delle aree motorie postula l'esistenza di connessioni foto-motorie dirette come principale via di diffusione dell'attività ipersincrona a partenza dalle aree occipitali, con conseguente comparsa di mioclono foto-indotto (Kanouchi et al., 1997). Tuttavia, non vi è testimonianza in letteratura di connessioni dirette

tra le aree visive e la corteccia motoria (Schwartz, 1994; Cantello et al., 2000); sussiste invece una serie di studi che hanno tentato di esplorare il passaggio “stimolazione luminosa intermittente --> modificazione dell’attività della corteccia motoria primaria”. Già uno studio spagnolo aveva dimostrato in 6 pazienti, all’inizio degli anni ’90, l’insorgenza di mioclonie a seguito di SLI con un pattern di attivazione motoria rostro-caudale, in cui il potenziale evocato motorio aveva minor latenza per le aree corticali della muscolatura facciale, seguite da quelle del muscolo bicipite e infine da quelle del tibiale anteriore (Artieda & Obeso, 1993). Successivamente, Kanouchi e colleghi hanno dimostrato con uno studio di tomografia a emissione di positroni (PET), seppure in un paziente affetto da atrofia corticale posteriore, che in concomitanza con la SLI si verificava un incremento del flusso ematico cerebrale regionale non soltanto in entrambe le corteccie visive, ma anche a livello delle aree motorie e premotorie. Inoltre, gli autori hanno sottoposto il medesimo soggetto a TMS a livello della corteccia occipitale sinistra, dimostrando che essa dava luogo a potenziali evocati motori (PEM) a livello dell’arto superiore destro (Kanouchi et al., 1997). In soggetti sani, Cantello e colleghi hanno valutato le modificazioni esercitate da un improvviso e inaspettato lampo di luce sui PEM evocati a livello del primo muscolo interosseo dorsale tramite TMS (che seguiva a intervalli prestabiliti gli stimoli luminosi). Essi hanno rilevato che l’ampiezza dei PEM si modificava in conseguenza dello stimolo luminoso: si riduceva per TMS iniziata a 55 ms dallo stimolo, ampliandosi invece se la TMS veniva azionata 90-130 ms dopo lo stimolo luminoso. Analizzando invece l’onda H a carico del muscolo soleo, se ne è osservato un significativo ampliamento per intervalli di 90-130 ms dallo stimolo (Cantello et al., 2000). In sintesi, sulla base delle evidenze appena esposte appare chiaro come peculiari modalità di stimolazione visiva influenzino significativamente i parametri di eccitabilità delle aree motorie.

Gli studi successivi hanno esplorato in vari gradi le relazioni sussistenti tra stimolazione della corteccia visiva e conseguenti risposte motorie, spesso impiegando la TMS, e talora estendendo l’analisi a coorti più ampie di soggetti epilettici. In primo luogo, Siniatchkin e collaboratori hanno valutato tramite TMS l’eccitabilità regionale delle corteccie visive e motorie in soggetti sani non fotosensibili e in soggetti fotosensibili ma sani, non affetti da epilessia. In relazione alla TMS occipitale, gli individui con PPR generalizzata hanno mostrato una soglia inferiore per l’induzione di fosfeni e una maggior soppressione visiva TMS-indotta (entrambi i precedenti fenomeni sono effetti riproducibili derivanti dall’applicazione dello stimolatore magnetico a carico dei lobi occipitali) rispetto ai soggetti non fotosensibili. In aggiunta, per quanto riguarda l’eccitabilità motoria, gli individui con

PPR generalizzata hanno presentato valori nei *ranges* della normalità a riposo; quando la TMS motoria veniva effettuata durante la stimolazione luminosa, si è verificata una riduzione del periodo silente corticale (CSP) per individui senza PPR o con PPR localizzata, mentre tale periodo non è variato in soggetti con PPR generalizzata (Siniatchkin et al., 2007b). I risultati della TMS occipitale confermano un'alterazione dell'eccitabilità in individui che presentano PPR generalizzata, e l'assenza di modifiche in soggetti con PPR localizzata supporta ulteriormente il concetto che essa non sia un tratto patologico, bensì una variante della norma. I risultati della TMS motoria evidenziano invece un'alterazione dell'integrazione visuo-motoria, a livello di una differenza nel CSP motorio durante SLI. Il CSP, da studi TMS, sembra riflettere l'attività di interneuroni inibitori intracorticali a trasmissione GABA_B-ergica (Werhahn et al., 1999); un CSP abbreviato sembrerebbe pertanto riflettere una riduzione dell'eccitabilità dei circuiti inibitori GABA_B-ergici, e la mancata abbreviazione nei soggetti PPR è stata interpretata dagli autori come riflesso di una "ipertrofia" dei circuiti inibitori, a scopo protettivo nei confronti di una ipersincronizzazione epilettica, in soggetti con sistema nervoso fotosensibile e dunque ipereccitabile (Siniatchkin et al., 2007b). Risultati analoghi in relazione al CSP sono stati ottenuti in uno studio successivo del medesimo gruppo, nel quale però sono stati sottoposti a TMS pazienti IGE fotosensibili, con prevalenza di epilessia tipo assenza giovanile. Anch'essi, pur esibendo valori dei parametri TMS a riposo nello spettro della normalità, non hanno presentato alcuna riduzione del periodo silente corticale durante SLI (Groppa et al., 2008). A completamento di questi risultati, uno studio successivo su pazienti IGE, ma prevalentemente affetti da JME, ha ottenuto i medesimi riscontri in termini di assenza di variazione del CSP durante la SLI (Strigaro et al., 2013).

Meccanismi della fotosensibilità: quale via visiva? V'è un ruolo del colore?

Abbiamo sinora dimostrato che la fotosensibilità è un fenomeno a genesi precipuamente corticale, che la sua ragione d'essere risiede in un'abnorme eccitabilità del sistema visivo, particolarmente spiccata in pazienti con PPR ed epilettici; è stato poi specificato come una iperfunzione delle connessioni visuo-motorie, specialmente in pazienti JME, risulti nella propagazione dell'eccitazione alla corteccia motoria e conseguente insorgenza di crisi miocloniche.

Facendo ora un passo indietro, e riconsiderando le vie tramite cui uno stimolo di determinate caratteristiche induce risposte fotoparossistiche, giungeremo infine a discutere come la fotosensibilità possa in realtà esplicitarsi mediante più di un meccanismo. Un'eccitazione abnorme della corteccia visiva può essere mediata da una delle due vie visive principali del sistema visivo umano: (a) magnocellulare o (b) parvocellulare, che originano a partire da cellule gangliari retiniche distinte (rispettivamente, *M* e *P*), permangono segregate nel nucleo genicolato laterale, e presentano sinapsi in strati diversi della corteccia visiva primaria (Leventhal et al., 1981). Queste vie visive presentano in oltre caratteristiche di risposta agli stimoli molto variabili: le cellule *M* rispondono preferenzialmente a stimoli con elevata frequenza temporale e bassa frequenza spaziale, e non sono selettive per il colore; di contro, le cellule *P* rispondono meglio a stimoli con elevato contrasto, alta frequenza spaziale e bassa frequenza temporale; la maggior parte di queste ultime inoltre presenta selettività cromatica, e la codifica del colore è organizzata secondo un sistema di opposte, a su assi rosso/verde e giallo/blu (Merigan, 1991).

Dal momento che la maggior parte dei protocolli per evocare anomalie foto-indotte si sono affidati a brevi flash luminosi ad alta frequenza (temporale), è stato sempre radicato il concetto che la principale via implicata nella loro genesi fosse la via magnocellulare. Tuttavia, se la scoperta che la maggior parte dei pazienti fotosensibili a pattern alternanti ha contribuito a comprendere la genesi corticale della fotosensibilità (vedi precedente paragrafo), essa ha anche posto in dubbio il ruolo egemone della via magnocellulare come via elettiva per la sua elicitazione. Difatti, è stato notato che, aumentando il contrasto di semplici pattern composti da strisce bianche e nere, si ottiene un incremento pressoché lineare della probabilità di ottenere anomalie foto-indotte (Wilkins et al., 1979). Sono stati pertanto intrapresi alcuni studi, con classificazione delle risposte fotoparossistiche in *spikes occipitali* (OS) e PPR generalizzate, volti a stabilire il ruolo delle vie magnocellulare e parvocellulare nella mediazione della fotosensibilità. I seguenti sono i risultati:

- (a) Gli OS comparivano a bassi livelli di contrasto con rapida saturazione, mentre le PPR generalizzate, scarsamente evocabili con bassi contrasti, aumentavano in modo direttamente proporzionale all'aumento del contrasto.
- (b) Gli OS non potevano essere elicitati da grate stazionarie, ma soltanto da grate con modificazioni continue della frequenze temporali degli stimoli; le grate stazionarie risultavano invece provocative per quanto riguarda le PPR generalizzate.
- (c) La stimolazione cromatica (alternanza rosso-blu) evocava preferenzialmente PPR generalizzate.

Sulla base di queste evidenze, gli autori hanno desunto che le *PPR generalizzate* sono evocate tramite la *via parvocellulare* (alti contrasti, responsività a stimoli statici, sensibilità cromatica), mentre gli *OS* sono indotti tramite la *via magnocellulare* (scarsa dipendenza dal contrasto, alte frequenze temporali, non evocabili con stimolazione cromatica). Ciò suggerisce in sintesi che *PPR generalizzate* e *OS* siano due fenomeni separati, evocati da condizioni di stimolazione distinte, e privi di alcuna inter-relazione; il fatto che gli *OS* spesso precedano le *PPR* (per questo precedentemente interpretate come secondaria generalizzazione degli *OS*) potrebbe essere semplicemente ricondotto alla maggiore velocità di trasmissione degli input visivi da parte della via magnocellulare. Gli autori hanno quindi ipotizzato che l'epilessia fotosensibile, con correlato elettro-clinico di *PPR generalizzata*, sia preferenzialmente mediata dalla via parvocellulare, e che gli stimoli in grado di attivare questa via siano i più criticamente epilettogeni. Di converso, gli *OS*, pur rappresentando una qualche forma di ipereccitabilità delle corteccia visiva, potrebbero non avere significato patologico (Harding & Fylan, 1999). La distinzione fisiopatologica fra *PPR generalizzata* e *OS* o *PPR locale* appare difatti ricorrere in numerosi studi successivi. Siniatchkin e colleghi, come sopra menzionato, hanno rilevato anomalie dell'eccitabilità corticale solamente in individui con *PPR generalizzata* (Siniatchkin et al., 2007a), e lo stesso vale per altri studi menzionati nel paragrafo precedente (Siniatchkin et al., 2007b; Strigaro et al., 2012).

Ora, dal momento che la via parvocellulare è selettiva per i colori, resta da valutare quale ruolo abbiano gli stimoli cromatici nell'indurre risposte fotoparossistiche generalizzate. Tale aspetto è stato inizialmente esplorato, a partire dagli anni '50, da un numero relativamente ridotto di studi, che hanno dimostrato una certa efficacia degli stimoli colorati nell'evocare *PPR*, e avevano attribuito maggiore provocatività al colore rosso (Carterette & Symmes, 1952; Takahashi et al., 1981). Il ruolo degli stimoli colorati è tornato prepotentemente all'attenzione dei clinici proprio nell'epoca del famoso *Pocket Monster Incident*, in cui lo stimolo provocativo era costituito da un'alternanza di flashes rosso/blu a 12 Hz (Harding, 1998). Per la precisione, già nel 1995 Takahashi e colleghi hanno dimostrato, in una coorte di pazienti affetti da IGE e fotosensibili, che una componente nello spettro del rosso (lunghezza d'onda: 660-720 nm, nel cosiddetto spettro del *deep red*) rappresentava l'unica componente spettrale essenziale per elicitare *PPR*, e che l'assorbimento di tale componente esitava nell'incapacità di evocare la risposta fotoparossistica. La peculiarità della luce *deep red* sta nella capacità di stimolare unicamente i coni rossi, senza dare luogo a interazioni antagonistiche (a livello delle cellule gangliari retiniche) derivanti dalla stimolazione di altre popolazioni di coni (Takahashi et al., 1995). Difatti, una caratteristica della visione del colore, costruita sul sistema delle oppo-nenze, è che la risposta di unità della corteccia visiva

alla stimolazione di cellule gangliari di una specifica sensibilità spettrale è ridotta se cellule gangliari con diversa sensibilità spettrale sono stimulate simultaneamente (Binnie et al., 1984). Dal momento che la luce *deep red* non dà luogo a stimolazioni antagonistiche, a ciò consegue probabilmente una stimolazione massimale della corteccia visiva, e quindi un altissimo potere provocativo (Harding, 1998). In uno studio seguente, Tobimatsu e colleghi hanno mostrato che *flickers* contenenti il colore rosso avevano maggior probabilità di provocare PPR e crisi epilettiche rispetto a luce blu o bianca della medesima intensità (Tobimatsu et al., 1999). Parallelamente, il gruppo di Takahashi ha riconfermato la forte provocatività della luce *deep red*, sia in soggetti epilettici affetti da varie sindromi (Takahashi et al., 1999a, 1999c) che in soggetti sani fotosensibili. Gli autori hanno inserito tali risultati nel contesto di una nuova teoria sulla genesi della fotosensibilità, che prevede l'esistenza di due meccanismi distinti: (a) il meccanismo lunghezza-d'onda-dipendente e (b) il meccanismo quantità-di-luce-dipendente. Le risposte PPR lunghezza d'onda-dipendenti sono quelle evocate unicamente da SLI contenente la componente spettrale ≈ 700 nm, mentre il meccanismo quantità-di-luce-dipendente sottende invece alle PPR indotte da SLI oltre una certa luminanza, ovvero contenenti più di una certa quantità di luce, prescindendo dalla sua composizione spettrale. In tal modo, secondo gli autori, l'eterogeneità dei meccanismi della PPR può spiegare ad esempio le controversie riguardanti la maggior provocatività della luce rossa (Takahashi et al., 1999a, 1999c). Sempre secondo i medesimi autori, sembra inoltre sussistere una correlazione tra i due distinti meccanismi fisiopatologici della fotosensibilità e la classificazione delle sindromi epilettiche: i soggetti fotosensibili non epilettici e i pazienti affetti da IGE ed epilessie focali presenterebbero prevalentemente una fotosensibilità lunghezza d'onda dipendente; nelle epilessie miocloniche severe dell'infanzia prevarrebbero le PPR quantità-di-luce dipendenti; i pazienti affetti da epilessia generalizzata sintomatica o da atrofia pallido-dentato-luisiana mostrerebbero invece entrambe le tipologie di risposta (Takahashi, et al., 1999c). Alcuni autori (Tobimatsu et al., 1999) hanno inoltre proposto, per meglio connotare la fotosensibilità lunghezza d'onda-dipendente, di usare un nuovo termine: "cromatosensibilità". Infine, un lavoro successivo ha rimarcato la provocatività del rosso rispetto ai *flickers* bianchi, mostrando inoltre come la sensibilità alla stimolazione con colori singoli possa essere efficacemente predetta dal grado di sensibilità alla stimolazione con *flickers* bianchi. In aggiunta, gli autori hanno testato l'efficacia delle stimolazioni costituite dall'alternanza di colori diversi, mostrando come lo stimolo più provocativo fosse costituito dall'alternanza rosso/blu (PPR presente nel 100% pazienti, già noti per essere fotosensibili), mentre la combinazione blu/verde fosse la meno provocativa (PPR nel 28%

dei pazienti). Di nota, l'effetto della stimolazione cromatica svaniva per frequenze di stimolazione superiori a 20 Hz, suggerendo una pertinenza con le proprietà della via parvocellulare, mentre ciò non avveniva per la luce bianca; il ruolo della stimolazione cromatica scompariva inoltre anche in condizioni di alta luminanza, la cui provocatività è probabilmente da riferire al meccanismo quantità-di-luce (Parra et al., 2007). La peculiare provocatività combinazione rosso/blu, la stessa colpevole del Pocket Monster Incident, è probabilmente da ascrivere alle proprietà sinergiche di questa specifica combinazione di colori, in base a quanto visto in studi su scimmie; essa sembra infatti reclutare popolazioni neuronali più estese rispetto alla luce bianca o ai colori singoli, particolarmente a carico della corteccia occipitale ventrale e di MT+ (Conway, 2001; Brewer et al., 2005).

Metodiche di valutazione della fotosensibilità

La metodica più diffusamente impiegata per la valutazione della fotosensibilità è denominata stimolazione luminosa intermittente (SLI), e rientra tra le metodiche cosiddette di “attivazione” dell’EEG in pazienti con epilessia sospetta o nota (Schomer & Lopes da Silva, 2010). L’efficacia della SLI è stata definita come la capacità di evocare PPR nel numero maggiore possibile di quei pazienti in cui uno stimolo visivo è in grado di indurre una crisi, con il minor tasso d’induzione di PPR in soggetti sani (Zifkin & Kasteleijn-Nolst Trenité, 2000). La notevole variabilità di efficacia della SLI, in ragione di differenze nei parametri di stimolazione impiegati, ha reso necessaria la formulazione di linee guida standardizzate per l’esecuzione della SLI nei laboratori EEG. Pubblicate per la prima volta nel 1999 (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2001), esse sono state recentemente aggiornate nel 2002 (Flink et al., 2002), nel 2004 (Rubboli et al., 2004) e poi 2011 (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2012). Le specificazioni tecniche del 2002 e del 2004 riguardavano le caratteristiche ottimali per un fotostimolatore (Tabella 1), e le corrette modalità di esecuzione della procedura nei laboratori EEG: esecuzione in ambiente con luce soffusa, livello di illuminazione costante, distanza stimolatore-nasion di 30 cm, stimolazione da eseguire prima dell’iperventilazione o ≥ 3 minuti dopo. Inoltre, Gli stimoli luminosi dovevano essere distribuiti in treni, della durata di 10 s, di stimoli alla medesima frequenza, con un intervallo tra un treno di *flashes* e l’altro ≥ 7 s. Il paziente doveva mantenere gli occhi aperti, fissando il centro della lampada, per i primi 5 s, poi chiuderli restando a occhi chiusi per i restanti 5 s di stimolazione. Le frequenze raccomandate, con il relativo ordine di

somministrazione, erano le seguenti: 1-2-3-4-6-8-10-12-14-16-18-20; qualora si verificasse una scarica epilettiforme generalizzata, si raccomandava di interrompere la procedura, e ripartire successivamente con una seconda sequenza con frequenze 60-50-40-30-20-etc. Inoltre, per motivi clinici, veniva consigliato di riportare l'eventuale terapia anti-comiziale del paziente, e se esso era deprivato di sonno al momento dell'esecuzione della SLI: a tal proposito, si raccomandava che un soggetto dovesse essere sottoposto a SLI per la prima volta solo dopo una notte di sonno regolare. Le diverse tipologie di risposta osservata dovevano essere classificate come sopra riportato (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2001): PPR posteriore stimolo-dipendente, PPR posteriore stimolo-indipendente, e PPR generalizzata; si doveva inoltre specificare se la risposta EEG veniva soppressa in monocularità, e se venivano osservati segni e sintomi in concomitanza della stimolazione (Rubboli et al., 2004). L'aggiornamento classificativo del 2011 ha modificato solo alcune delle specificazioni appena riportate. Si è inserita innanzitutto la raccomandazione, sottintesa ma non precedentemente specificata, di registrare, prima della SLI, almeno 2.5 minuti di EEG ad occhi aperti e 2.5 minuti a occhi chiusi. È stata poi modificata la modalità di somministrazione degli stimoli: da 5 s occhi aperti + 5 s occhi chiusi si è passati a raccomandare di testare ciascuna frequenza, con treni di *flashes* della durata di 5s, separatamente in tre condizioni: (a) occhi aperti, (b) occhi chiusi, (c) chiusura degli occhi all'inizio della stimolazione. Infine, vi sono state lievi cambiamenti delle frequenze da testare: 1-2-8-10-15-18-20-25-40-50-60, mentre quelle da somministrare a ritroso, in caso di comparsa di risposta epilettiforme generalizzata, sono diventate 60-50-40-25-etc (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2012). La maggioranza dei pazienti fotosensibili risulta generalmente sensibile a frequenze comprese tra 10 e 30 Hz (Leijten et al., 1998). Si può

Caratteristiche ottimali di un fotostimolatore
Massima intensità: > 100 cd/m ² per flash
Diametro circolare
Lampada allo xenon
Presenza di diffusore granulare e riflettore
Punto di fissazione centrale sul diffusore
Assenza di pattern o grate sullo stimolatore
Capacità di proiettare flash da 1 a 60 Hz a intensità costante

Tabella 1. Caratteristiche ottimali di un dispositivo per stimolazione luminosa intermittente. Adattato da Rubboli et al., 2004.

desumere come particolare enfasi sia stata data alla condizione della chiusura palpebrale, che sembra aumentare la provocatività della stimolazione luminosa intermittente; il meccanismo sottostante sembra essere un effetto di diffusione, che viene incrementato dalla riduzione dell'intensità della stimolazione luminosa attraverso le palpebre (Harding et al., 1994).

Tuttavia, se si analizzano le caratteristiche degli stimoli in grado di provocare crisi epilettiche, si rileva che, come menzionato in precedenza, il flash di luce bianca rappresenta soltanto uno dei possibili tipi di stimoli provocativi. In dettaglio, uno stimolo è definito provocativo se, secondo Wilkins e colleghi, possiede le seguenti caratteristiche: (a) bassa soglia di evocazione di PPR, (b) interferenza con la percezione di altri stimoli, (c) capacità di dare luogo a PEV di notevole ampiezza e (d) incrementare localmente il consumo di ossigeno cerebrale (Wilkins et al., 2004). Tali proprietà sono possedute da un'ampia gamma di stimoli provenienti da varie fonti, e non soltanto dagli strumenti impiegati nella canonica SLI, come altrove specificato: schermi televisivi, video-giochi, luci fluorescenti, fonti ambientali etc. Inoltre, è stato anche discusso come non solo *flashes*, ma anche pattern alternanti siano epilettogeni; difatti pattern oscillanti, *flashes deep red*, alternanza rosso/blu colore, e variazioni di luminanza o contrasto possono agevolmente provocare PPR generalizzate e crisi epilettiche in soggetti fotosensibili (Fisher et al., 2005b).

Allo scopo di rendere più completa la valutazione della fotosensibilità, ed esplorare la responsività dei soggetti ad altre categorie di stimoli, sono state sviluppate metodiche alternative di valutazione. Per lo studio della sensibilità ai pattern a strisce, è stato concepito lo *striped pattern testing*: esso si basa sulla presentazione, attraverso un monitor TV, di strisce ad alto contrasto bianco/nero, presentate per 10 s, stazionarie o oscillanti a frequenze spaziali comprese tra 0.5 e 6 cicli/grado (Rubboli et al., 2004). Tale metodica può essere ad esempio indirizzata per una proporzione significativa di pazienti pattern sensibili, che non sono fotosensibili se testati con SLI convenzionale (Harding et al., 2005).

Una tra le metodiche non convenzionali più popolari, impiegata anche in questo lavoro di tesi, è denominata *stimolazione visiva a bassa luminanza* (Low Luminance Visual Stimulation - LLVS). Viene eseguita, in base alle indicazioni fornite dai primi studi di Takahashi e colleghi, impiegando pattern o *flickers* a luminanza compresa tra 10-30 cd/m², esclusivamente con il soggetto a occhi aperti. Sono impiegati in particolare *flickers* di colore rosso nello spettro *deep red*, di cui è stata precedentemente discussa l'elevata provocatività (Takahashi et al., 1995, 1999a, 1999c; Parra et al., 2007); per la produzione di stimoli

luminosi con tali caratteristiche, è sufficiente applicare una serie di filtri ai comuni stimolatori utilizzati per la SLI convenzionale (Rubboli et al., 2004). Il gruppo di Takahashi ha pubblicato, nel 1999, uno studio comparativo tra LLVS (luminanza: 20 cd/m²) e SLI convenzionale con stroboscopio standard (luminanza: 3939 cd/m²) effettuato su 92 pazienti epilettici. Per quanto riguarda la LLVS, gli autori hanno installato una serie di filtri appositi per presentare *flickers deep red* o *pattern deep red* (a puntini, grate orizzontali, grate verticali a frequenza spaziale di 2 c/grado) della durata di 5 s, intervallati da periodi privi di stimolazione di 10-30 s. I risultati ottenuti hanno una rilevanza notevole: 31 pazienti (33%) sono risultati fotosensibili, ma soprattutto è stata osservata una maggiore provocatività della stimolazione a bassa luminanza, tanto sotto forma di flicker quanto di pattern, rispetto alla SLI convenzionale (Figura 9): mentre la SLI a occhi chiusi alla frequenza di 18 Hz, presentava un tasso di provocatività del 45%, tale valore saliva al 58% per i flickers, al 48% per i pattern a punti, al 71% per le grate orizzontali e al 90% per le grate verticali *deep red*. Solo un soggetto risultava complessivamente non sensibile ad alcuna della 4 modalità di LLVS, e presentava invece PPR generalizzata durante SLI convenzionale. I pazienti reclutati nello studio non risultavano tuttavia uniformi in quanto a classificazione sindromica: 8 erano affetti da epilessia puramente fotosensibile, 8 da epilessia con crisi generalizzate tonico-cloniche al risveglio, 4 da IPOE, 3 da epilessia benigna dell'infanzia con punte centro-temporali, 2 da JME, 2 da epilessia tipo assenza dell'infanzia, 2 da epilessia del lobo temporale e uno da epilessia idiopatica fotosensibile non meglio caratterizzata (Takahashi et al., 1999b). Nel complesso, tuttavia, i risultati di questo studio di Takahashi, oltre a sancire nettamente l'efficacia della LLVS come metodica per identificare soggetti fotosensibili, pongono anche in discussione l'affidabilità della SLI convenzionale come unica metodica di stimolazione. Difatti, nelle nuove linee guida del 2011, viene dato maggior risalto alla valutazione della fotosensibilità: il loro utilizzo viene codificato come tecnica da impiegare per indagini di secondo livello, nell'ottica di caratterizzare la fotosensibilità di un soggetto in modo più *patient-centered* (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2012).

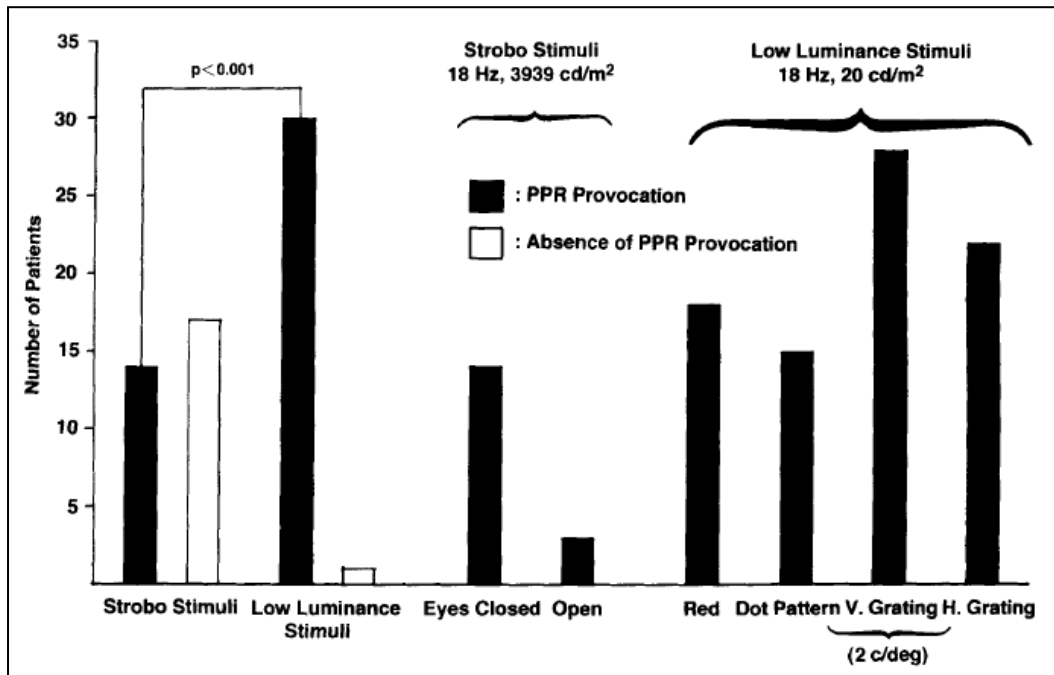


Figura 9. Confronto tra LLVS e SLI convenzionale. Si evidenzia dal grafico la maggiore provocatività della stimolazione a bassa luminanza, rispetto a SLI luce stroboscopica standard, nell'evocare anomalie foto-indotte in pazienti epilettici. Barre nere: presenza di PPR; barre bianche: assenza di PPR. Tratto da Takahashi et al., 1999b.

EEG-fMRI

EEG

Introdotta come metodica strumentale dal neuropsichiatra tedesco Hans Berger nel 1929, l'EEG consente la misurazione delle variazioni di potenziale che l'attività bioelettrica cerebrale genera a livello dello scalpo. Per definizione, l'EEG di superficie può essere considerato la risultante dei cosiddetti potenziali di campo (*field potentials*), prodotti dalle fluttuazioni dell'attività elettrica di ampie popolazioni di neuroni corticali; a loro volta, tali flussi di corrente extra-cellulare sono generati dalla sommazione spaziale dei potenziali post-sinaptici delle cellule attivate. Il tracciato EEG costituisce la rappresentazione grafica della differenza di potenziale elettrico tra un elettrodo registrante, posto al di sopra della sede dove ha luogo l'attività neuronale, e un elettrodo referente, teoricamente indifferente, posto a una determinata distanza dal primo. Risulta inoltre una misura dinamica, dal momento della suddetta differenza di potenziale viene raffigurato l'andamento nel corso del tempo (Kandel et al., 2000).

Le cellule neuronali attivate presentano correnti elettriche trans-membrana mediante due meccanismi principali: (a) il potenziale d'azione, responsabile di una depolarizzazione rapida di membrana; ha origine dal cono di emergenza assonale ad opera di canali ionici voltaggio-dipendenti; (b) i potenziali post-sinaptici eccitatori o inibitori, risultanti dall'attivazione sinaptica neurotrasmettitore-mediata. Il principale contributo ai grafoelementi EEG deriva proprio dai potenziali post-sinaptici; presentando durata assai maggiore dei potenziali d'azione (40-100 ms rispetto a 1-2 ms), possono andare più efficacemente incontro a sommazione, e dare luogo a campi elettrici di ampiezza tale da poter essere registrati all'esterno. Inoltre, caratteristica di notevole interesse per quanto riguarda la nostra capacità di localizzazione della sorgente del segnale, i potenziali post-sinaptici sono potenziali locali, e la loro ampiezza si riduce con il progressivo allontanamento dalla sorgente. Le correnti extra-cellulari, in termini di ampiezza, sono nell'ordine dei μV ; è stato stimato che, per generare un segnale abbastanza ampio da poter essere registrato in superficie, sia necessaria l'attivazione sincrona di più di 100 neuroni corticali compresi in un'area di almeno 6 cm^2 . L'ampiezza del segnale EEG risulta inderogabilmente dalla sincronizzazione dell'attività dei neuroni implicati, come conseguenza della sommazione potenziali eccitatori e inibitori a livello di un gruppo neuronale in un dato istante di tempo. A seguito del rilevamento del segnale elettrico da

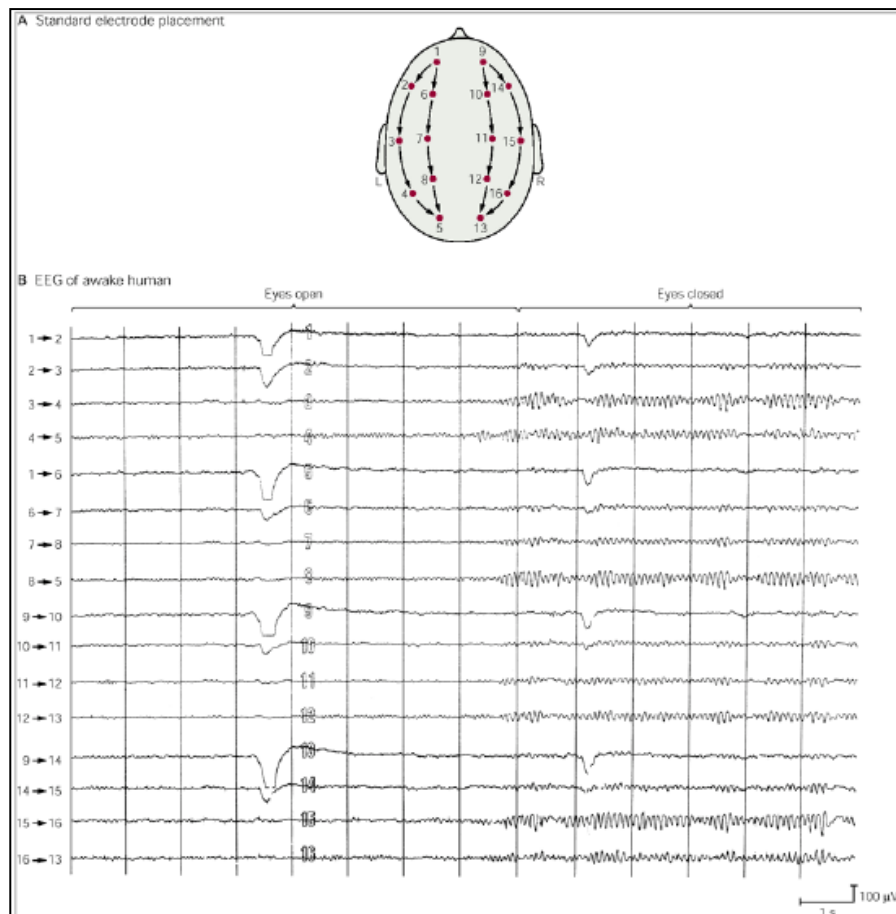


Figura 10. Esempio di tracciato EEG standard in un soggetto sano sveglio. (A) Metodica di disposizione standard degli elettrodi di superficie. Il montaggio è bipolare: vengono registrate le differenze di potenziale tra coppie di elettrodi. (B) Segnale EEG in un soggetto sveglio a riposo. All'inizio della registrazione si osserva un'attività a basso voltaggio (ampiezza di circa 20 μ V). A metà della registrazione il soggetto chiude gli occhi. Si noti la comparsa di attività di maggior ampiezza e frequenza 8-13 Hz; è il normale ritmo alfa, tipico della veglia quieta. Le linee verticali sono poste a intervalli di 1 s. Adattato da Kandel et al., 2000.

parte degli elettrodi dello scalpo, sussiste un passaggio di amplificazione (dell'ordine di circa un milione di volte), a cui segue l'invio del segnale all'elettroencefalografo propriamente detto, che può essere analogico o digitale. Si ottiene in questo modo un tracciato caratterizzato dal susseguirsi di onde sinusoidali, risultante dalle differenze di potenziale elettrico con direzione perpendicolare rispetto allo scalpo, e quindi dal contributo preferenziale dei neuroni piramidali corticali (Figura 10) (Mecarelli et al., 2010).

E' importante sottolineare già in questa sede che il segnale così ottenuto presenta un'eccellente risoluzione temporale, dell'ordine di millisecondi, mentre la risoluzione spaziale risulta non altrettanto ottimale. Infatti, come sopra riportato, ciascun elettrodo registra a partire da aree di vari centimetri quadrati; inoltre, e questo è il motivo principale della scarsa risoluzione spaziale dell'EEG, il suo campionamento spaziale è assai

incompleto: l'attività a carico di una varietà di aree corticali, soprattutto basali e mesiali, e di tutte le strutture sottocorticali, non è rilevabile tramite gli elettrodi di superficie (Fisher et al., 1992).

Come sopra menzionato, tramite l'EEG di superficie sono rilevabili grafoelementi patologici epilettiformi; ciò motiva il notevole ausilio della metodica elettroencefalografica nel percorso diagnostico-terapeutico di pazienti affetti da sospetta o nota epilessia (Smith et al., 2005).

Risonanza magnetica funzionale

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è una metodica di *neuroimaging* che si propone di indagare il funzionamento del sistema nervoso centrale, in maniera complementare rispetto alle indagini di tipo morfologico. Sviluppata originariamente su modelli murini da Ogawa e colleghi nel 1990, è stata poi applicata all'uomo nel 1992 (Ogawa et al, 1992).

Il principio metodologico su cui si fonda la fMRI è il rilevamento del c.d. segnale BOLD, acronimo per *blood-oxygen-level-dependent response*. In dettaglio, è noto che l'attività neuronale encefalica dipende dall'apporto di ossigeno e metaboliti (principalmente glucosio) da parte del circolo arterioso, con tasso di estrazione costante del 30-40% di ossigeno trasportato dall'emoglobina. La deossigenazione dell'emoglobina determina una modificazione delle sue proprietà magnetiche: difatti, mentre l'ossiemoglobina è diamagnetica, la deossiemoglobina è paramagnetica. È altresì noto che le sostanze paramagnetiche determinano alterazioni a carico della suscettività magnetica locale, con conseguenti distorsioni del campo magnetico e velocizzazione della perdita della magnetizzazione trasversale dei nuclei di idrogeno secondo il tempo di rilassamento $T2^*$; da ciò deriva che sequenze RM pesate in $T2^*$ presentano un maggior segnale in presenza di ossiemoglobina, e minore in prevalenza di deossiemoglobina. In presenza di una stimolazione di una determinata area cerebrale, si verificano i seguenti passaggi, che costituiscono nel complesso la c.d. *risposta emodinamica*:

- (1) La stimolazione esita in un aumento dell'attività neuronale locale, con aumento transitorio delle richieste metaboliche. Segue un fugace incremento del tasso di estrazione dell'ossigeno ematico, con transitoria riduzione del rapporto ossiemoglobina/deossiemoglobina e decremento del segnale in $T2^*$ rilevato con fMRI (*initial dip*).

- (2) A questo fenomeno segue, dopo circa 3 secondi, la risposta vascolare, caratterizzata da un aumento del flusso ematico e del volume ematico locale, che raggiunge il proprio picco in 5-6 secondi; tale aumento di flusso risulta proporzionalmente eccedente le esigenze tissutali della regione attivata.
- (3) Ciò si traduce in un incremento del rapporto ossiemoglobina/deossiemoglobina, con conseguente aumento del segnale $T2^*$ (*overshoot*), denominato risposta BOLD positiva, in condizione di attivazione neuronale, rispetto allo stato di riposo.
- (4) Se lo stimolo che ha determinato attivazione neuronale perdura nel tempo, si osserva il passaggio dell'*overshoot* a un plateau, che si esaurisce al termine della richiesta metabolica neuronale.
- (5) Infine, l'incremento di volume ematico appena descritto determina una riduzione del segnale RM in $T2^*$, denominata *undershoot*, che può comparire fino a 30 secondi dopo lo stimolo. Difatti, una volta esaurito lo stimolo, l'estrazione di ossigeno e il flusso ematico arterioso locale ritornano a valori normali; nelle venule a bassa compliance si accumula invece transitoriamente un volume di sangue superiore al livello basale. Ne risulta un aumento della deossiemoglobina, e quindi una riduzione del segnale in sequenze $T2^*$ rispetto alla condizione pre-stimolo (Vedi Figura 11)(Kwong et al., 1992).

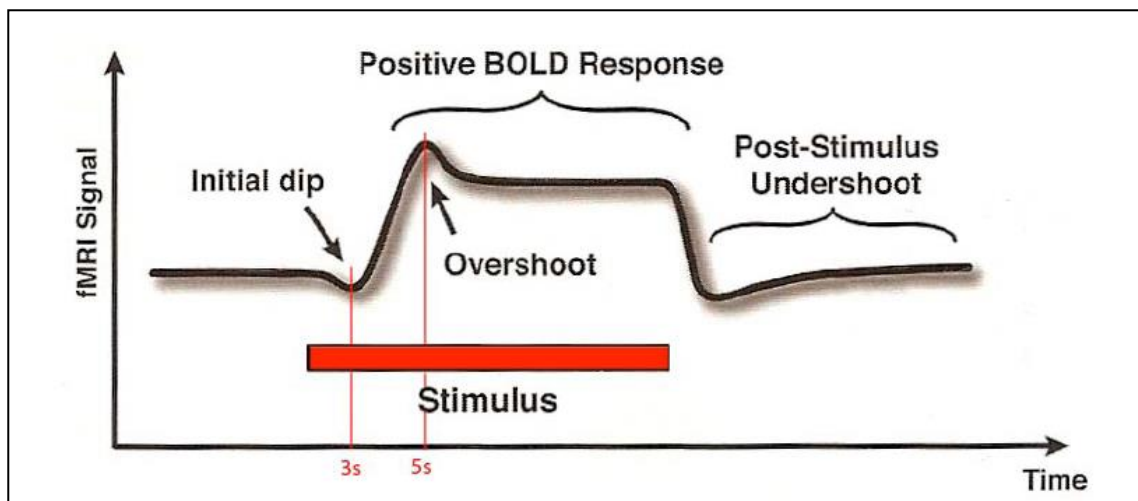


Figura 11. Visualizzazione grafica della risposta emodinamica. Sono qui riportati le modifiche del segnale BOLD in relazione a un lungo evento-stimolo (20 s), che costituiscono nel complesso la risposta emodinamica. Dopo 3 s dall' inizio dello stimolo, si nota un aumento di segnale che raggiunge il picco dopo 5-6 s (*overshoot*). Al termine della stimolazione, il segnale cade sotto i livelli basali pre-stimolo (*undershoot*). Per ulteriori dettagli, si veda il testo. Adattato da Kwong et al., 1992.

La rappresentazione matematica della risposta emodinamica è denominata *hemodynamic response function* - funzione di risposta emodinamica (HRF), ed è stata descritta in letteratura mediante l'applicazione di diversi modelli matematici (Friston et al., 1995). Per inciso, è importante notare che una corretta modellizzazione dell'HRF è requisito fondamentale per la corretta analisi di risposte BOLD in diversi paradigmi di stimolazione.

Le modifiche del segnale BOLD, che riflettono quindi i cambiamenti dell'omogeneità del campo magnetico locale causati dalla risposta emodinamica (che fa variare le concentrazioni relative di ossi- e deossi-emoglobina), sono considerate una misura indiretta dell'attività neuronale sottesa a tali modifiche di flusso: si fa riferimento pertanto all'assunto fondamentale della fMRI, l'accoppiamento neuro-vascolare (*neurovascular coupling*). Inoltre, la fisiologia della risposta emodinamica rende conto della scarsa sensibilità temporale della metodica; difatti, i fenomeni misurati mediante fMRI si sviluppano nel corso di secondi (picco dell'*overshoot*: 5-6 s). Di contro, la risoluzione spaziale della metodica è invece eccellente utilizzando un magnete ad alto campo, e dipende esclusivamente dalla misura dei singoli voxel (Friston et al., 1995). Come sopra specificato, per poter rilevare modifiche del segnale BOLD si rende necessaria l'applicazione di sequenze RM specifiche, che presentino elevata dipendenza dal T2* tissutale e consentano una rapida acquisizione di immagini; la sequenza attualmente più utilizzata in studi fMRI è denominata GE-EPI, acronimo per *gradient-echo echo-planar imaging* (Chavhan et al., 2009). I dati derivanti dalle sequenze GE-EPI richiedono un'elaborazione preliminare, allo scopo di minimizzare gli artefatti e aumentare il rapporto segnale/rumore; tali passaggi vengono effettuati con appositi software di analisi dei dati, tra cui FSL, quello impiegato nel presente studio (Smith et al., 2004). Infine, allo scopo di valutare se il segnale registrato in condizione di stimolo e quello acquisito in condizione di riposo differiscono, vengono impiegate metodiche dedicate di elaborazione dei dati fMRI. Ciò esita nella produzione di mappe statistiche parametriche, che identificano regioni cerebrali in cui vige un cambiamento statisticamente sopra-soglia del segnale BOLD tra condizione basale e condizione di riposo (Friston et al., 1995). Infatti, a differenza delle metodiche di *imaging* quali PET o SPECT, in cui un incremento di segnale nelle scansioni cerebrali corrisponde ad un reale aumento nella captazione/legame con traccianti specifici, le alterazioni colorimetriche (tipicamente verso il rosso per l'attivazione, verso il blu nella deattivazione) nelle immagini fMRI sono il risultato di una complessa rielaborazione off-line, in cui voxel per voxel viene comparato statisticamente il segnale BOLD durante lo stimolo rispetto ad immagini dello stesso paziente in condizioni basali. Tra gli approcci più frequentemente impiegati per implementare tale analisi statistica vi

sono il modello generale lineare (GLM – *General Linear Model*), applicato anche per questo lavoro di tesi, e l'analisi spaziale delle componenti indipendenti (ICA – *Independent Component Analysis*) (Beckmann, 2012).

Combinazione: EEG-fMRI

L'utilizzo della risonanza magnetica funzionale è stato senz'altro favorito nel contesto di studi sulle funzioni sensoriali, motorie e cognitive. In tali esperimenti si possono identificare sia una condizione di controllo (spesso viene scelto lo stato di veglia quieta) che una condizione sperimentale, rappresentata da un compito (sensoriale, motorio o cognitivo); l'andamento del segnale BOLD in relazione alle due distinte condizioni può poi essere confrontato, dalle differenze emerse possono essere tratte conclusioni inerenti la funzione di determinate aree o reti del sistema nervoso centrale, e il tutto può avvenire in maniera fedelmente controllata dallo sperimentatore.

Nel caso dell'epilessia, come scrive Jean Gotman, l'epilettologo con la maggiore esperienza in studi di EEG-fMRI, la situazione è più complessa. La condizione di controllo e quella sperimentale assumono tutt'altro significato: possono essere individuate, rispettivamente, in un EEG privo di anomalie epilettiformi e, nel caso della condizione sperimentale, in un tracciato EEG in cui le anomalie intercritiche sono invece presenti. Per ricreare tale condizione sperimentale, necessaria per poter introdurre l'impiego della risonanza funzionale in ambito epilettologico, si è reso necessario registrare l'EEG mentre il soggetto si trova nello scanner RM (Gotman, 2008). Tale compito non è affatto semplice, sia valutando le caratteristiche del segnale EEG, di basse ampiezze e pertanto particolarmente sensibile a interferenze elettromagnetiche esterne, sia considerando i forti campi magnetici con cui si utilizza la fMRI (1.5 – 7 Tesla). Nonostante tali difficoltà, il primo report della co-registrazione EEG e risonanza magnetica risale al 1992: "*Monitoring the patients' EEG during echo planar MRP*", così recita il titolo del lavoro condotto dal gruppo del dipartimento di Neurologia del Beth Israel Hospital di Boston. Tramite un'accurata selezione dei materiali e dei cablaggi, ed eliminando componenti ferrosi e sorgenti di radiofrequenza, gli autori affermavano di aver ottenuto un EEG leggibile, senza alterare la qualità del segnale RM, e senza rischi per i soggetti sottoposti; era aperta pertanto la via per gli studi che puntassero alla combinazione di un segnale ad altissima risoluzione temporale quale l'EEG con uno ad alta risoluzione spaziale, quale quello RM (Ives et al., 1993). Successivamente, studi del medesimo gruppo hanno riportato incrementi localizzato del segnale BOLD in

relazione a scariche epilettiformi registrate con l'EEG, mentre i pazienti, affetti da epilessie focali, si trovavano all'interno dello scanner RM; valutando tali modifiche alla luce del segnale EEG, gli autori hanno dedotto che una plausibile interpretazione di tali foci di aumentato segnale BOLD li classificherebbe come aree di aumentata attività neuronale di natura verosimilmente epilettiforme. In base a tale interpretazione, risulta evidente la portata di tali riscontri: si potrebbe essere dinanzi alla prima dimostrazione che, con la fMRI, si possono localizzare modifiche flusso-correlate dell'attività neuronale sottesa a anomalie epilettiformi intercritiche, o a vere e proprie crisi epilettiche (Warach et al., 1996; Patel et al., 1999). Di conseguenza, divennero subito chiari gli obiettivi di tale nuova metodica: identificare, in maniera non invasiva, il focus epilettogeno nelle epilessie focali, e valutare la questione della modalità di origine delle crisi nelle epilessie generalizzate.

Prima che ciò divenisse possibile, tuttavia, alcune questioni tecniche dovevano essere affrontate. Anzitutto, per migliorare la qualità del segnale EEG, in cui gli artefatti indotti dai campi magnetici dinamici potevano risultare sino a 50 volte maggiori del segnale di EEG di fondo, si è resa necessaria la messa a punto di amplificatori dedicati, con range dinamico sufficiente a prevenirne la saturazione (Krakow et al., 2000). Ciò nonostante, l'accensione del gradiente di lettura fMRI dava luogo a effetti, dovuti alla generazione di correnti indotte, tali da rendere il tracciato EEG illeggibile (*artefatto da gradiente*). L'unico metodo per evitare i problemi causati dall'artefatto da gradiente era quello di iniziare l'acquisizione del segnale fMRI subito dopo l'osservazione di un evento EEG, il cosiddetto approccio *spike-triggered*: durante la lettura costante del tracciato EEG da parte di un neurofisiologo, si iniziava manualmente a registrare una sequenza EPI 3-4 s dopo ogni anomalia epilettiforme, tempistica con cui si trovava la risposta emodinamica vicina al proprio picco; era necessaria inoltre una registrazione di un quantitativo sufficiente di sequenze di baseline, per consentire un confronto appropriato fra segnale post-anomalia epilettiforme e baseline (Warach et al., 1996; Patel et al., 1999). Tale approccio presentava tuttavia una serie di svantaggi, motivo per cui la creazione di un algoritmo di sottrazione dell'artefatto da gradiente, basato sulla stima dell'artefatto e sulla sua sottrazione sequenza per sequenza, fu accolta con notevole entusiasmo (Figura 12) (Allen et al., 2000). Un'altra tipologia di artefatto comunemente osservata nell'EEG registrato in risonanza è l'*artefatto da cardioballogramma*; esso consiste nella distorsione del segnale in corrispondenza di ogni battito cardiaco, ed è da ascrivere a piccoli movimenti della testa e/o degli elettrodi a seguito di ciascuna pulsazione arteriosa. Esso è stato individuato come uno dei principali aspetti peggiorativi della qualità del segnale già nei primi reports (Ives et al., 1993), e

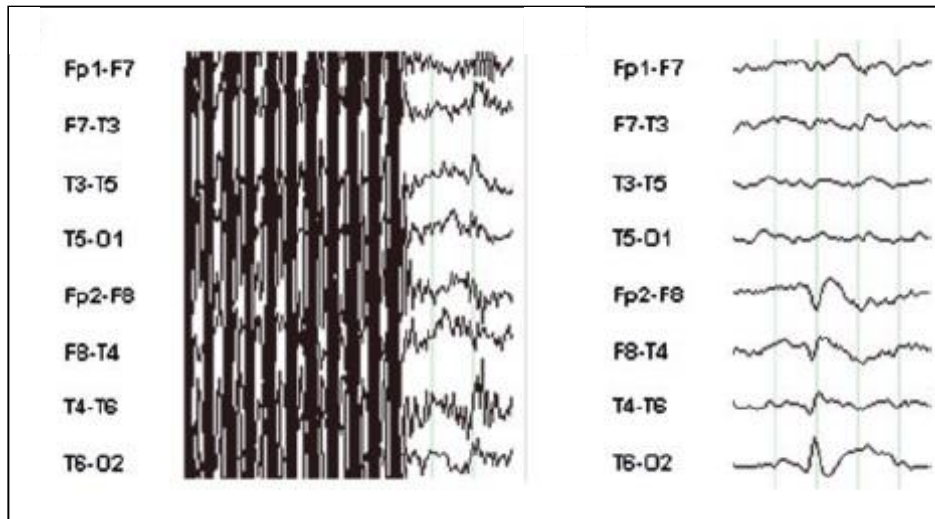


Figura 12. Esempio di artefatto da gradiente durante acquisizione EEG-fMRI.

Il tracciato EEG di sinistra è stato registrato nello scanner RM durante l'acquisizione di sequenze EPI; senza un algoritmo di rimozione dell'artefatto, l'attività EEG non è visibile. A destra è visibile il medesimo segmento ritratto a sinistra, dopo rimozione dell'artefatto da gradiente. Rielaborato da Gotman, 2008.

sembra assumere maggior prominenza con l'utilizzo di magneti ad alto campo (3-7 T); sono stati sviluppati tuttavia numerosi algoritmi per provvedere alla sua sottrazione (Allen et al., 1998; Bénar et al., 2003). L'adozione degli algoritmi di sottrazione degli artefatti da gradiente e da cardioballistogramma ha permesso il passaggio dall'EEG-fMRI *spike-triggered* a una lettura dell'EEG senza interruzione alcuna, simultaneamente all'acquisizione continua del segnale fMRI. I vantaggi di tale metodica sono difatti i seguenti: (a) v'è una maggior sensibilità per l'identificazione di modifiche del segnale spike-correlate, rispetto alla modalità *spike-triggered*, e (b) l'acquisizione continua consente il calcolo della risposta emodinamica, con conseguente possibilità di indagine più dettagliata nei meccanismi del accoppiamento neurovascolare (Gotman, 2008).

A seguito di tali innovazioni tecniche, l'impiego in ambito epilettologico dell'EEG-fMRI è divenuto assai più ampio, mostrando un potenziale tanto per le sindromi generalizzate quanto per quelle focali.

EEG-fMRI in epilessia

Il razionale dell'impiego di una tecnica di indagine multimodale quale l'EEG-fMRI in epilessia varia a seconda della tipologia di sindrome considerata. Nelle epilessie focali, si combinano due esigenze che tale metodica è chiamata a soddisfare: (a) la caratterizzazione dei meccanismi fisiopatologici sottesi alla scarica epilettica e alle anomalie intercritiche (da dove iniziano e quali regioni coinvolgono), e (b) di conseguenza, l'identificazione, nel contesto di un planning chirurgico, della zona irritativa o *ictal onset zone*. Per questo secondo obiettivo, l'EEG-fMRI è stata vista come tecnica particolarmente promettente: permetterebbe teoricamente di superare le problematiche relative al solo utilizzo di *imaging* strutturale (le lesioni radiologicamente visibili spesso non co-localizzano con la zona irritativa), consentirebbe di non dover ricorrere a PET o SPECT, e soprattutto di poter evitare il posizionamento di elettrodi EEG intracranici, procedura di nota invasività, e applicabile soltanto a determinate categorie di pazienti (Vulliemoz et al., 2010).

Per quanto riguarda le epilessie generalizzate, invece, i risvolti derivanti dall'utilizzo dell'EEG-fMRI riguardano soltanto l'ambito fisiopatologico, e potrebbero fornire ulteriori informazioni per migliorare la classificazione delle sindromi epilettiche. L'impatto in termini clinici sarebbe, per lo meno nell'immediato, più modesto, non essendo contemplata per i pazienti affetti da epilessia generalizzata una soluzione di tipo chirurgico (Laufs & Duncan, 2007).

I risultati ottenuti negli ultimi anni, circa la validazione dell'utilità clinica dell'EEG-fMRI rispetto ad altre metodiche di localizzazione del focolaio epilettogeno nelle epilessie focali, sono nel complesso incoraggianti. I risultati EEG-fMRI hanno mostrato concordanza di localizzazione, se confrontati con l'iper-perfusione ictale vista con la SPECT e l'ipometabolismo nella PET, sia in coorti di pazienti epilettici adulti (Lazeyras et al., 2000), sia in popolazioni pediatriche (De Tiege et al., 2007). Il confronto tra *clusters* di risposta BOLD riferiti a eventi EEG di superficie, e il segnale ottenuto tramite EEG con elettrodi intracranici, ha rivelato buona sovrapposibilità in più di uno studio (Béнар et al., 2006; Grova et al., 2008). Inoltre, la propagazione delle anomalie intercritiche, in base a quanto registrato da elettrodi intracranici, è stata mostrata procedere dalla prossimità di un *cluster* BOLD all'altro (Grova et al., 2008). Inoltre, in un altro studio, è stato evidenziato come la *ictal onset zone*, come rilevata mediante elettrodi intracranici, corrispondesse al cambiamento più statisticamente evidente del segnale BOLD ottenuto con EEG-fMRI (Tyvaert et al., 2008).

In sintesi, buona parte delle risposte BOLD sembra corrispondere a quanto sarebbe lecito aspettarsi sulla base del segnale EEG superficiale, almeno nel contesto della nostra comprensione della fisiopatologia delle crisi epilettiche proveniente da modelli animali. Inoltre, come afferma Gotman, le risposte BOLD sono interessanti soprattutto se non corrispondono a dove noi ce le aspetteremmo sulla base dell'EEG e delle nostre pregresse conoscenze (Gotman, 2008). Ciò è indiscutibilmente vero, da un lato, ed è ciò che ci consente di ottenere nuove informazioni fisiopatologiche; tuttavia, la questione non è così semplice: nonostante le evidenze sopra riportate, vi è una significativa porzione di casi (30-40%) in cui il segnale BOLD correlato alle anomalie interictali non interessa la zona irritativa (Laufs & Duncan, 2007); e tale porzione di non-corrispondenza è ciò che ha indotto ad effettuare studi per apportare migliorie metodologiche, quali la ricerca di diverse funzioni di risposta emodinamica rispetto alla HRF canonica, o algoritmi innovativi di rimozione dell'artefatto (Laufs, 2012). In base alle più recenti evidenze, è verosimile che la corretta interpretazione di tale discrepanza sia da riferire al seguente assunto: che le *modificazioni del segnale BOLD riflettano, in senso lato, la propagazione dell'attività epilettogena*. E ciò sarebbe plausibile considerando la differente sorgente dei segnali BOLD ed EEG, e soprattutto la risoluzione temporale del segnale BOLD, particolarmente adatta a riflettere la diffusione della scarica epilettica (Gotman, 2008; Vulliemoz et al., 2010).

Per quanto riguarda soprattutto la chiarificazione dei meccanismi fisiopatologici sottesi alla scarica epilettica, un apporto significativo è venuto da studi EEG-fMRI che hanno eseguito analisi di gruppo su soggetti con specifiche sindromi epilettiche. In questo contesto, gli studi EEG-fMRI hanno tentato di individuare i cosiddetti *network epilettici*, una nuova concettualizzazione della fisiopatologia epilettica desunta da studi invasivi di elettrofisiologia, *imaging* e osservazioni anatomiche su modelli animali e sull'uomo (Spencer, 2002); in base a tal concetto, l'epilessia sarebbe da intendere come patologia di ampie reti neuronali, costituite da un insieme di regioni corticali e sottocorticali rappresentate bilateralmente e connesse anatomicamente, in cui l'attività di una componente influirebbe sull'attività delle restanti. Una varietà di studi EEG-fMRI sono stati dedicati a corroborare tale teoria e identificare le componenti di tali reti; essi hanno ad esempio individuato le componenti della rete limbica alla base dell'epilessia del lobo temporale mesiale (Laufs et al., 2006), o esaltato la significatività del talamo nelle epilessie generalizzate (Gotman et al., 2005), o identificato il ruolo della corteccia piriforme in varie sindromi epilettiche focali (Laufs et al., Neurology 2011).

In sintesi, l'esatta correlazione fra EEG di superficie e segnale BOLD non è chiara, probabilmente perché manca ancora una metodica di analisi dei dati che sia ottimale. Gli stessi risultati di uno studio variano molto a seconda del suo disegno e dell'analisi dei dati, e non vi è ancora accordo su quale sia il metodo d'analisi più appropriato per l'attività epilettiforme e il corrispondente segnale metabolico (Gotman, 2008). Un altro esempio del presente stato di inadeguatezza metodologica sta nell'interpretazione del significato delle "attivazioni" e delle "deattivazioni": mentre nel caso degli studi cognitivi gli assiomi "incremento BOLD = attivazione neuronale" e "riduzione BOLD = deattivazione neuronale" sono entità stabili, potrebbe non verificarsi lo stesso in ambito epilettologico; la relazione potrebbe essere valida per corteccia e talamo, ma non per i nuclei della base (Logothetis, 2008; Mishra et al., 2011).

EEG-fMRI nelle epilessie generalizzate idiopatiche

Non esistono attualmente in letteratura studi EEG-fMRI condotti esclusivamente su coorti di pazienti JME. La maggioranza degli studi condotti in quest'ambito si è concentrata in maniera più ampia su pazienti affetti da IGE, in cui è stato analizzato l'andamento dei segnali EEG e fMRI in relazione alle anomalie tipo punta-polipunta/onda (Gotman, 2008). Aghakani e collaboratori hanno condotto un'analisi su 14 pazienti IGE (di cui soltanto uno affetto da JME), identificando, in relazione a scoppi di anomalie epilettiformi all'EEG, un'attivazione del talamo, bilaterale e simmetrica e, per quanto riguarda la corteccia, una serie di risposte diffuse, bilaterali e simmetriche a carico di una varietà di aree, prevalentemente sotto forma di deattivazione (Aghakani et al., 2004). Una successiva analisi di gruppo nella medesima serie ha mostrato attivazione bilaterale di talamo, aree frontali mesiali, insulae e cerebellare mediana; le deattivazioni sono state riscontrate bilateralmente nelle regioni frontali anteriori, parietali, e nella corteccia cingolata posteriore (PCC/precuneo) (Gotman et al., 2005); tali dati sono stati confermati anche da studi successivi (Hamandi et al., 2006), condotti su pazienti con anomalie epilettiformi primariamente e secondariamente generalizzate. Tale serie di studi è di importanza notevole, in quanto fa luce sul coinvolgimento del talamo negli scoppi di punta-onda viste nelle IGE, e conferma il coinvolgimento di circuiti talamo-corticali nella generazione dei complessi punta-onda. Inoltre, in contrasto con la distribuzione prevalentemente frontale delle punta-onda all'EEG, le modifiche della risposta BOLD appaiono invece più diffuse,

con le regioni posteriori altrettanto coinvolte quanto le regioni anteriori (Gotman, 2008). Inoltre, la distribuzione delle deattivazioni (aree frontali, aree parietali, PCC) sembra coincidere con le aree del cosiddetto *default mode network* (vedi paragrafi successivi), rete neuronale attiva in condizioni di riposo, e deattivata quando il soggetto è impegnato in compiti di qualsiasi tipo (Raichle et al., 2001): e difatti, specularmente, l'interferenza delle scariche punta-onda con il default mode network potrebbe rappresentare il substrato della rottura del contatto con l'ambiente non appena l'attività epilettiforme esita in episodio critico (Gotman, 2008). Per quanto riguarda invece l'analisi dinamica del segnale BOLD in relazione all'insorgenza delle anomalie intercritiche, condotta in numerosi lavori con lo scopo di identificare le aree di origine delle scariche epilettiformi generalizzate, sono stati raggiunti risultati discordanti: qualcuno ha identificato come responsabili dell'inizio della propagazione delle scariche i nuclei intralaminari posteriori del talamo (Tyvaert et al., 2009); altri un ruolo di fondamentale di aree corticali, ma con variabilità da paziente a paziente (Moeller et al., 2010), mentre altri studi ancora affermano che il *trigger* corticale avrebbe invece rilevanza soltanto nei casi di pazienti farmaco-resistenti (Szafarski et al., 2010). Nell'analisi dinamica di Carney e colleghi, invece, viene invece segnalata un'attivazione precoce della corteccia parietale, cui seguono attivazione talamica e deattivazione del DMN e della formazione reticolare (Carney et al., 2010). Tale risultato è stato parzialmente confermato da studi successivi, in cui però l'attivazione corticale precoce non era limitata alla corteccia parietale, ma interessava diffusamente una varietà di altre regioni, quali le aree frontali e PCC/precuneo (Benuzzi et al., 2012). Non vi è quindi concordanza inter-studio sulla sequenzialità delle attivazioni e deattivazioni BOLD in relazione ad anomalie epilettiformi generalizzate; probabilmente, la standardizzazione delle metodiche di analisi dei dati, con scelta dei modelli più appropriati, consentirà in futuro di risolvere tali controversie.

Fotosensibilità ed EEG-fMRI

Gli studi che hanno valutato i correlati EEG-fMRI della fotosensibilità sono pochi e presentano tutti una serie di difetti metodologici.

I primi risultati risalgono al 1999, pubblicati in due lavori consecutivi da parte del gruppo di Neurofisiologia Clinica del Massachusetts General Hospital di Boston. Tali autori hanno reclutato 9 pazienti affetti da epilessia generalizzata idiopatica (non sono riportate ulteriori specifiche sindromiche), definiti fotosensibili se avevano in precedenza presentato PPR durante SLI effettuata in laboratorio con luce stroboscopica convenzionale; nello studio, l'analisi comparativa è avvenuta confrontando tre gruppi: pazienti IGE con PPR, pazienti IGE non fotosensibili, e controlli sani. La metodica di stimolazione luminosa impiegata in risonanza, non standardizzata, constava di occhialini a LED di colore rosso, emettenti stimoli luminosi a frequenza compresa tra 16 e 20 Hz, in un paradigma con 2s di stimolazione (on) e 28s di riposo ripetuto tra le 5 e le 7 volte. Poiché il lavoro risale al 1999, non erano ancora presenti algoritmi per la rimozione dell'artefatto da gradiente, il che ha reso gli EEG acquisiti parzialmente illeggibili. Inoltre, probabilmente a causa della brevità dei cicli di stimolazione luminosa, non tutti i pazienti fotosensibili hanno presentato PPR durante la co-registrazione EEG-fMRI. Nonostante tali limiti, gli autori hanno riportato, in relazione alla stimolazione luminosa, le seguenti differenze tra pazienti fotosensibili e i gruppi di controllo: (a) maggior attivazione delle aree visive occipitali, (b) pronunciata risposta negativa, indipendentemente dalla presenza di PPR, a livello dell'area motoria primaria e del cingolo posteriore; entro i due secondi dalla fine della stimolazione, un sottogruppo dei pazienti con PPR ha mostrato inoltre diffuse aree di deattivazione, interpretata come *undershoot* del segnale fMRI, e prevalenti a carico della corteccia occipitale e della parte posteriore della circonvoluzione del cingolo. L'analisi di spettroscopia a risonanza magnetica ha inoltre evidenziato un incremento dei livelli di lattato nei pazienti con PPR a livello della corteccia occipitale al termine dei 2 s di stimolazione luminosa. Gli autori hanno quindi ipotizzato che tanto l'iperattivazione della corteccia visiva quanto le successive aree diffuse di *undershoot* fossero da ascrivere a una iper-reattività vascolare, presunto segno di ipereccitabilità corticale. Di contro, le deattivazioni durante fotostimolazione, individuate a livello dell'area motoria primaria e della corteccia cingolata posteriore, potevano essere messe motivate dall'innesco di processi inibitori volti a precludere l'insorgenza di attività critica a partenza dalle aree motorie (Hill et al., 1999; Chiappa et al., 1999).

Uno studio successivo, volto a indagare i correlati fMRI della risposta fotoparossistica, è stato pubblicato a 10 anni di distanza dai primi lavori dal gruppo di Neurologia e Neuropediatria dell'Università di Kiel. Moeller e colleghi hanno studiato una casistica costituita da 30 pazienti, che avevano riportato almeno una PPR generalizzata durante precedenti EEG di routine. Tale coorte non appariva tuttavia omogenea in quanto a criteri diagnostici: soltanto 16 pazienti erano affetti da epilessia, e i rimanenti 14 erano stati sottoposti a EEG in quanto affetti da cefalea, o familiari di pazienti epilettici. Grazie all'adozione di algoritmi di rimozione degli artefatti da gradiente e da cardioballogramma, la lettura dell'EEG poteva avvenire continuamente durante l'acquisizione RM, per la quale è stato impiegato uno scanner a 3 T. La stimolazione luminosa all'interno dello scanner è stata ottenuta collegando una lampada stroboscopica standard per EEG, tramite cavi a fibra ottica, a degli occhialini fatti indossare ai soggetti nello scanner. La SLI veniva effettuata tramite somministrazione di *flashes* a 5-10-15-20 e 25 Hz, in ordine pseudo-randomizzato e con ciascuna frequenza ripetuta 5 volte, in blocchi della durata di 20 s, intervallati da periodi di 15 s privi di stimoli; ai soggetti è stato richiesto di mantenere gli occhi chiusi per tutta la durata della stimolazione. Soltanto 6 soggetti, di cui 4 pazienti epilettici, hanno presentato PPR durante l'acquisizione combinata EEG-fMRI. In relazione al regressore SLI, è stata osservata attivazione della corteccia visiva in tutti i soggetti, senza significative deattivazioni. Utilizzando invece come regressore un punto arbitrario che precedeva la PPR di 3 secondi (*early regressor*), si sono notate attivazioni a livello delle corteccia parietale adiacente al solco intraparietale (5 soggetti/6), e della corteccia premotoria (6/6). L'andamento del segnale BOLD in relazione alla PPR (*standard regressor*) ha invece mostrato deattivazioni nelle aree precedentemente attivate in relazione allo *early regressor*, con l'aggiunta della deattivazione a livello del nucleo caudato in 2 pazienti, e dell'attivazione del talamo in un singolo paziente. Sulla base di questi risultati, gli autori hanno ipotizzato che l'andamento del segnale BOLD in relazione allo *early regressor* possa riflettere l'aumento di sincronizzazione in banda gamma, che è stato mostrato (Parra et al., 2003) precedere le PPR generalizzate. Il riscontro di una netta attivazione della corteccia parietale prima dell'insorgenza della PPR ha indotto gli autori a speculare che tale area possa svolgere un ruolo centrale nella generazione delle PPR, in considerazione delle afferenze visive che la porzione di corteccia in prossimità del solco intraparietale riceve. L'attivazione delle aree premotorie sembrerebbe invece avvenire, probabilmente come interessamento secondario a partire dalla corteccia parietale, in corrispondenza dei campi oculari frontali, nel contesto di una connessione fronto-parietale ben caratterizzata nella generazione dei movimenti saccadici degli occhi. Di difficile interpretazione risultavano

invece la deattivazione a livello del nucleo caudato (2/6) e nel talamo. Gli autori hanno speculato che tali strutture, pur potenzialmente coinvolte nella genesi delle anomalie epilettiformi PPR-associate, svolgessero un ruolo di secondo piano. Essi hanno concluso che le anomalie generalizzate delle PPR, viste nel gruppo di pazienti analizzati, potessero essere interpretabili come fenomeno eminentemente corticale, derivante dall'interazione di aree corticali strettamente interconnesse, probabilmente (e diversamente dalle canoniche scarica poli/punta-onda) in assenza di mediazione talamica (Moeller et al., 2009).

Tuttavia, tanto la mancanza di omogeneità nella casistica dei pazienti analizzati, quanto un ovvio limite metodologico dello studio, la modalità di stimolazione luminosa intermittente, con caratteristiche di luminanza e somministrazione degli stimoli non standardizzabili, rendono di ancor più difficile interpretazione tali risultati. Ulteriori studi sono pertanto necessari per ottenere informazioni più precise, una volta superate le suddette limitazioni tecniche.

Le reti di riposo

Nel contesto delle indagini circa il funzionamento del sistema nervoso centrale, ci troviamo dinanzi a una serie di aree corticali e subcorticali parallele, variamente interconnesse e distribuite su una scala di ampiezza massiva. La connettività anatomica o strutturale rappresenta la base per lo sviluppo di un'interconnessione funzionale tra aree cerebrali distanti, la cui comunicazione consente un'integrazione continua di informazioni e rappresenta probabilmente il substrato di processi cognitivi superiori (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010). A questo complesso processo di connettività, e quindi di coerenza delle attività di regioni spazialmente segregate, ma funzionalmente interconnesse, si attribuisce il termine di *connettività funzionale*. Più precisamente, essa si può definire come la correlazione temporale tra pattern di attivazione neuronale spazialmente remoti, espressa in termini di indipendenza statistica tra questi eventi in gruppi neuronali distribuiti (Friston et al., 1993; Biswal et al., 1997). Un ulteriore fattore in questo contesto è rappresentato dal fatto che, in condizione di riposo, è stato osservato dapprima con studi PET, poi mediante fMRI, come l'attività di varie aree corticali esibisse fluttuazioni lente (0.01-0.05 Hz) a riposo, e come tali pattern di attività fluttuanti a bassa frequenza in una determinata regione mostrassero coerenza di fase con quelle di un gruppo di regioni distinte, spazialmente distanti tra loro (Raichle et al., 2001; Fox & Raichle, 2007). Gli studi di caratterizzazione di queste fluttuazioni coerenti del segnale BOLD a riposo hanno suggerito che esse possano

riflettere l'attività neuronale di base nel cervello umano, ovvero rappresentarne il suo stato di base in assenza di stimoli esterni o attività neuronale rivolta a un obiettivo. Inoltre, è stato anche speculato che le regioni spazialmente distinte, ma accomunate dalla coerenza delle fluttuazioni di segnale BOLD a riposo, corrispondano a *resting-state networks* (RSN), cioè a c.d. “reti di riposo” con rilevanza funzionale (Damoiseaux et al., 2006). È stato apprezzato in più studi che esiste una varietà di RSN spazialmente distinte nel dataset di immagini di un cervello a riposo, e che ciascuna RSN presenti un caratteristico decorso temporale del segnale. Le RSN più consistenti sono state classificate da De Luca e colleghi in:

- (1) RSN1: rete posteriore, include le principali aree visive: corteccia occipitale e parieto-temporale (De Luca et al., 2006; Damoiseaux et al., 2006).
- (2) RSN2: il cosiddetto *default mode network*, rete postero-laterale e della linea mediana, include principalmente PCC/precuneo, corteccia prefrontale mesiale e orbitofrontale, lobulo parietale inferiore e ippocampo con giro paraippocampale (Greicius et al., 2003; De Luca et al., 2006; Damoiseaux et al., 2006).
- (3) RSN3: rete laterale e della linea mediana, include le principali aree deputate al controllo motorio e somatosensoriale: circonvoluzioni pre- e post-centrali, strutture della linea mediana inclusi talamo e ipotalamo (De Luca et al., 2006; Damoiseaux et al., 2006).
- (4) RSN4: rete che include la corteccia parietale dorsale e prefrontale laterale, funzionalmente integrate in un'ampia serie di processi cognitivi. Probabilmente sottende aree implicate nella percezione visiva volta all'azione (*where pathway*) (De Luca et al., 2006; Damoiseaux et al., 2006).
- (5) RSN5: rete ventrale, costituita da cortecce occipito-parietale inferiore, temporale inferiori e prefrontale ventrale (*what pathway*) (De Luca et al., 2006; Damoiseaux et al., 2006).

Si veda anche la Figura 13. Il significato delle RSN non è ancora chiarito. La maggior parte degli studiosi si è concentrata sul significato del *default mode network* (RSN2), che molti ritengono implicato negli stati di introspezione, nel richiamo di ricordi, nella pianificazione degli eventi futuri e nella valutazione delle prospettive altrui (Buckner 2008). Il significato delle altre reti sembra correlare con le funzioni delle regioni coinvolte: visiva (RSN1), integrazione sensori-motoria (RSN3), localizzazione visuo-spaziale (RSN4) e riconoscimento visuo-spaziale (RSN5) (Damoiseaux et al., 2006). Tuttavia, altri studi sono più cauti, attribuendo alle RSN il significato di modalità di default di interazione a riposo tra regioni integrate funzionalmente, che potrebbe avere un ruolo nello sviluppo e nel

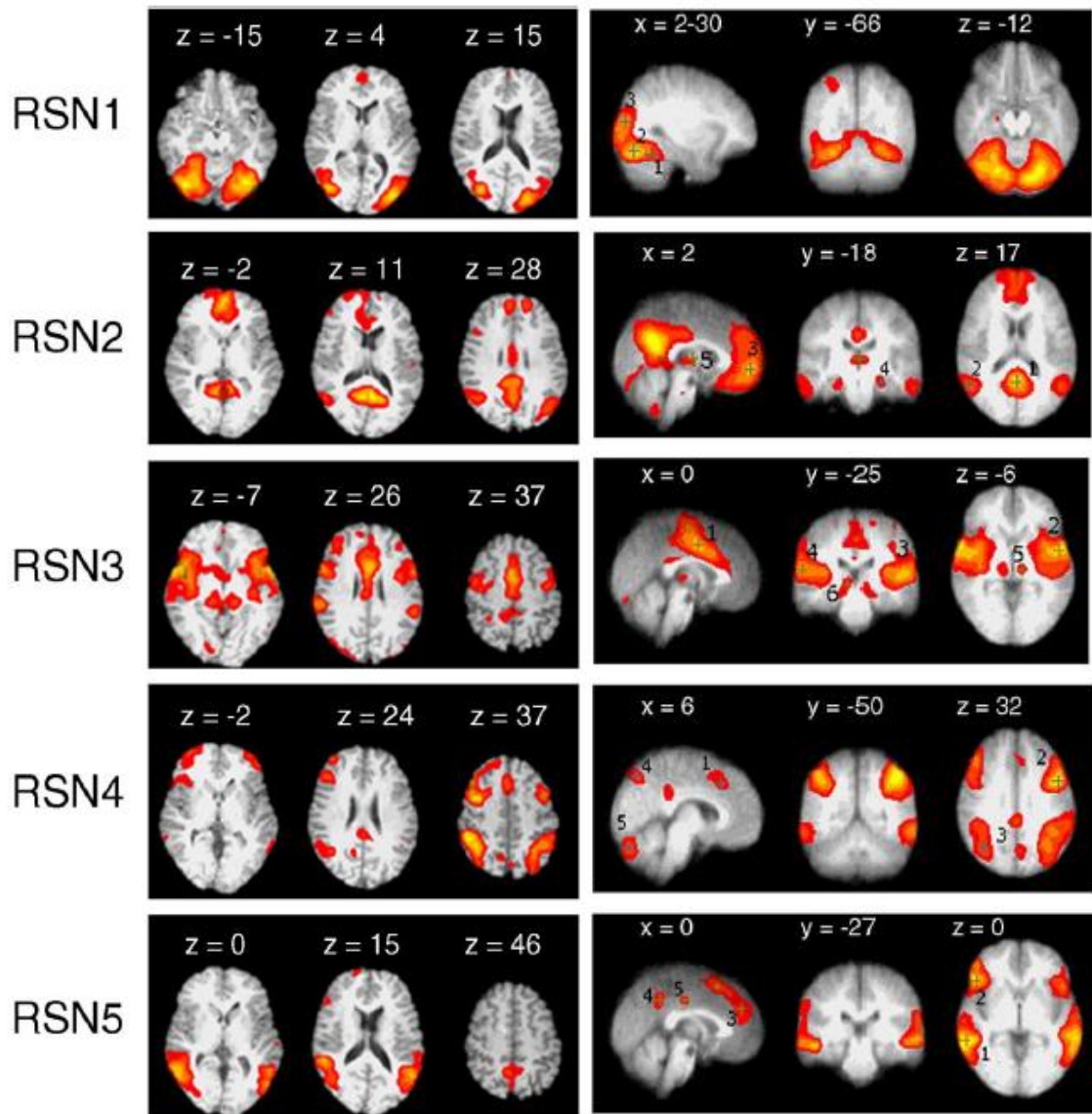


Figura 13. Reti di riposo.

Rappresentazione grafica delle aree di pertinenza delle reti di riposo RSN1-RSN5. Per una descrizione dettagliata dei componenti di ciascuna rete, si veda il testo. Rielaborato da De Luca et al., 2006.

mantenimento dell'architettura funzionale dinamica del cervello (Pizoli et al., 2011). Vi sono recenti dimostrazioni di un'attivazione fluttuante, ciclica, di tali reti in condizione di riposo, che potrebbe dinamicamente evolvere in attivazione task-indotta in caso di interessamento del dominio funzionale da esse presieduto (Simmons & Martin, 2012).

La motivazione per cui il concetto di rete di riposo è introdotto in questo elaborato è unicamente legato al fatto che i nostri risultati di variazione del segnale BOLD, in relazione a SLI o PPR all'EEG, saranno schematizzati mediante l'applicazione del modello delle reti di riposo. È degno di nota però menzionare che il *default mode network* è stato oggetto di

studi anche in ambito epilettologico, soprattutto per quanto ne riguarda il coinvolgimento negli episodi di perdita del contatto tipici delle crisi generalizzate tipo assenza (Gotman, 2008).

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Come è emerso nei paragrafi soprastanti, gli studi che hanno impiegato l'EEG-fMRI allo scopo di caratterizzare le mappe di attivazione/deattivazione in relazione ad anomalie intercritiche in pazienti IGE mostrano grande eterogeneità in termini di risultati. Non esiste inoltre alcuno studio che abbia valutato tale aspetto in una casistica di soli pazienti JME. Per quanto riguarda i correlati BOLD della risposta fotoparossistica, sia il numero ridotto di studi che una serie di limitazioni metodologiche degli stessi ne rendono l'interpretazione ancora più difficoltosa.

Nel presente studio, ci siamo proposti di selezionare una casistica di pazienti omogenea in relazione a diagnosi sindromica, che fosse costituita soltanto da pazienti affetti da JME. La necessità di un evento riproducibile, per poter correttamente effettuare l'analisi del segnale fMRI fra evento e condizione di controllo, ci ha portati a selezionare la risposta fotoparossistica. Come sopra discusso, difatti, la comparsa di anomalie foto-indotte è altamente prevalente in pazienti JME (fino al 70% a seconda delle casistiche). Rappresenta inoltre un parametro eccellente per l'analisi, in quanto contraddistinta da anomalie epilettiformi simili per distribuzione e caratteristiche in tutti i pazienti. Data inoltre la possibilità di evocare PPR mediante stimolazione luminosa intermittente, la fotosensibilità rappresenta per definizione un fenomeno ripetibile e riproducibile, prestandosi particolarmente a un'analisi EEG-fMRI.

Per quanto riguarda la metodica di stimolazione luminosa intermittente da impiegare nello scanner RM, non esiste al momento alcuna tipologia di strumentazione commercializzata in grado di riprodurre le caratteristiche della SLI effettuata in un laboratorio EEG. Al fine di utilizzare una metodica riproducibile e standardizzabile, che non sollevasse nel contempo alcuna questione circa la sicurezza clinica, è stato impiegato un sistema dedicato. Occhialini RM-compatibili, agenti come schermi LCD, sono stati posizionati dinanzi agli occhi dei pazienti; tali occhialini erano a loro volta collegati, tramite sistema a fibre ottiche, a un PC posizionato in sala d'acquisizione che conteneva il software atto alla generazione degli stimoli. L'unica possibilità di stimolo applicabile in questo contesto era rappresentata da una stimolazione visiva a bassa luminanza (LLVS), con alternanza rosso /nero, e lunghezza d'onda degli stimoli rossi nell'ambito del *deep red* (680 nm). La scelta della tipologia di stimolazione ci è apparsa valida sulla base degli studi del gruppo di Takahashi, che hanno dimostrato che la LLVS presenta notevole provocatività (Takahashi et al., 1999b), e che la

PPR in pazienti IGE presenta una specificità per lunghezze d'onda nell'ambito del *deep red* (Takahashi et al., 1995).

Gli obiettivi del presente studio sono i seguenti:

- (1) Confrontare l'andamento della risposta BOLD tra pazienti e controlli durante LLVS *deep red* a diverse frequenze (10-15-20 Hz).
- (2) Analizzare, nel sottogruppo di pazienti fotosensibili, la dinamica della risposta BOLD in relazione alla risposta fotoparossistica all'EEG.
- (3) Validare la metodica di stimolazione LLVS in una coorte di pazienti omogenei (JME), tramite un confronto di provocatività tra SLI convenzionale e LLVS.

METODI

Popolazione

Sono stati reclutati 10 controlli sani e 10 pazienti con diagnosi clinico-strumentale di epilessia mioclonica giovanile, dei quali 9 seguiti presso il Centro Regionale di Riferimento per la Diagnosi e la Terapia dell'Epilessia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, e 1 presso l'Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico "Stella Maris" di Calambrone - Pisa.

Tutti i soggetti arruolati nello studio sono stati sottoposti, previa visita neurologica con esame obiettivo nella norma, e colloquio volto a escludere patologia psichiatrica, a un protocollo standard di acquisizione EEG-fMRI presso l'Unità Operativa di Neuroradiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana.

Caratteristiche tecniche del protocollo EEG-fMRI e della LLVS impiegata

La strumentazione in nostro possesso, impiegata per l'acquisizione, l'analisi e l'elaborazione dei dati EEG-fMRI, consta di:

- a) Cuffia EEG RM-compatibile (*BrainCap-MR 32-Channel-Standard, BrainProducts, Germany*), dotata di 32 canali di registrazione e con annessi resistori di sicurezza.
- b) Soluzione di raschiamento cutaneo e gel di preparazione cutanea (*Nuprep Skin Prep Gel, Weaver Company, Colorado, USA*), utilizzate in sequenza allo scopo di mantenere le impedenze degli elettrodi al di sotto di 5 k Ω .
- c) Amplificatore RM-compatibile (*BrainAmp-MR, BrainProducts, Germany*), cui sono connessi gli elettrodi della cuffia, e che ha lo scopo di amplificare il segnale EEG ottenuto.
- d) Adattatore (*USB2 Adapter, Brain Vision, BrainProducts, Germany*) posizionato nella consolle d'acquisizione. Riceve il segnale dall'amplificatore tramite connessione con fibra ottica, lo converte da analogico in digitale e lo invia al computer della consolle.

- e) Software per la acquisizione e per l'analisi del segnale EEG (*Brain Vision Recorder, Brain Vision Rec View and Brain Vision Analyzer software, BrainProducts, Germany*), installato sul computer della consolle.

L'utilizzo di tale strumentazione (Figura 14), unitamente alla sovrintendenza sulle varie fasi del protocollo di acquisizione EEG-fMRI, che saranno in seguito delineate, ha richiesto la dedizione di un team ad hoc, composto da Neurologi/Neurofisiologi, Neuroradiologi, Fisici e/o Ingegneri Biomedici.

I soggetti sono stati inizialmente sottoposti a un monitoraggio EEG basale, della durata di circa 3 minuti. Questo è stato effettuato in prossimità della consolle, all'esterno del locale di risonanza, immediatamente prima dell'acquisizione EEG-fMRI e con la strumentazione sopra descritta. Dopo l'acquisizione basale, i soggetti sono stati posizionati nello scanner

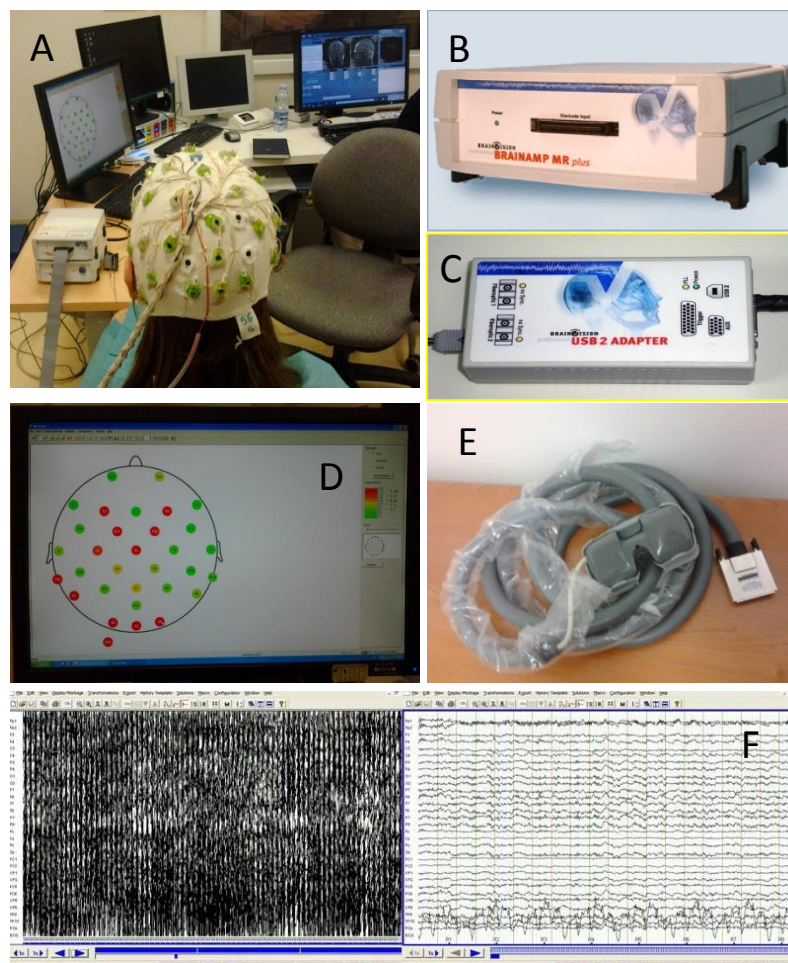


Figura 14. Strumentazione EEG-fMRI impiegata nello studio.

(A) cuffia RM-compatibile; (B) amplificatore; (C) adattatore; (D) software di acquisizione; (E) occhiali RM-compatibili; (F) software di analisi, con immagine che mostra una schermata EEG prima e dopo la rimozione dell'artefatto da gradiente.

RM per l'acquisizione, e sono stati dotati di occhiali RM-compatibili (vedi Figura 14) creati ad hoc allo scopo di somministrare gli stimoli visivi intermittenti.

Il protocollo dello studio ha previsto l'acquisizione continua dell'EEG simultaneamente all'acquisizione del segnale fMRI, nel contesto di un disegno sperimentale a blocchi di stimolazione visiva a bassa luminanza (LLVS). Lo stimolo visivo è consistito nella somministrazione in maniera intermittente di *flickers* di luce rossa in banda cosiddetta *deep red* ($\lambda = 680 \text{ nm}$) e luminanza inferiore a 30 cd/m^2 . Sono state selezionate le frequenze di 10, 15 e 20 Hz, sulla base di studi che riportano una maggiore provocatività della stimolazione a 18 Hz confrontata con frequenze maggiori (Siniatchkin et al., 2007b; Groppa et al., 2008). Tali frequenze sono state proiettate in ordine pseudo-randomizzato, ripetute ciascuna cinque volte in blocchi attivi della durata di 20 s, alternati da un blocco di riposo (colore nero) della durata di 15 s. Ai soggetti è stato richiesto di mantenere gli occhi aperti per tutta la durata della registrazione. Sono stati impiegati softwares dedicati sia per la programmazione dei blocchi di stimolazione, sia per l'effettiva proiezione degli stimoli nel contesto della maschera oculare (*Presentation, Neurobehavioral Systems, California, USA* e *VisuaStim Digital, Resonance Technology Inc., Illinois, USA* rispettivamente).

In relazione all'acquisizione dei dati fMRI, avvenuta simultaneamente alla registrazione del segnale EEG, è stato utilizzato lo scanner RM a 3 Tesla General Electric in dotazione alla U.O. Neuroradiologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, impiegando una bobina a 8 canali ricevente e trasmittente. La sequenza a uso fMRI pesata in $T2^*$ è stata una gradient-echo echo-planar *imaging* (GE-EPI) (TR 2,500 ms, TE 60ms, delay in TR 20 ms, FA 90° , image matrix 128×128 , in plane field of view $220 \times 220 \text{ mm}^2$) con 28 interleaved slices (slice thickness 5mm) posizionate a 30° rispetto al piano commissurale antero-posteriore. Sono stati acquisiti 300 volumi per un totale di 12.5 minuti di acquisizione. È stata inoltre programmata anche una immagine volumetrica pesata in $T1$ ad alta risoluzione (sequenza BRAVO: TR 2,160 ms, TI 1,100 ms, TE 3.93 ms, FA 10° , voxel size $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, 176 slices assiali, tempo totale di acquisizione 6 min) per la sovrapposizione delle mappe di attivazione alle immagini anatomiche.

Analisi dei dati EEG-fMRI

A seguito delle sessioni sperimentali, è stata effettuata l'analisi dei dati, che nel caso di un'acquisizione EEG-fMRI consta di una serie di passaggi standard:

- (a) Filtraggio e segmentazione del tracciato EEG, seguite dall'identificazione degli eventi di interesse, rappresentati nella fattispecie da anomalie fotoparossistiche.
- (b) Applicazione del modello matematico prescelto per la rappresentazione degli eventi fMRI (block design).
- (c) Scelta di un modello di risposta emodinamica (HRF canonica) per la convoluzione del segnale fMRI con il modello matematico di rappresentazione degli eventi.
- (d) Costruzione di un Modello Generale Lineare (GLM)
- (e) Produzione di Mappe Statistiche Parametriche (SPM)
- (f) Co-registrazione delle mappe di attivazione con immagini RM anatomiche ottenute con la sequenza BRAVO.

Il filtraggio dell'EEG è stato eseguito in due tempi: dapprima si è ricorsi a un filtraggio on-line, in simultanea durante la registrazione del segnale; in seguito si è utilizzato un più cospicuo filtraggio off-line. Per il filtraggio on-line è stato utilizzato un algoritmo apposito, che applica sistematicamente un modello dell'artefatto indotto sull'EEG dalla apparecchiatura RM, dopo averlo costituito tramite analisi e mediazione di 3 epoche successive di EEG. Questo tipo di filtraggio permette un monitoraggio costante in simultanea dell'EEG durante l'acquisizione stessa, e consente altresì di identificare rapidamente artefatti macroscopici. Il successivo e vero e proprio filtraggio, quello off-line, consente invece la rimozione degli artefatti mediante l'applicazione di un modello ottenuto in questo caso dalla mediazione di tutte le epoche EEG del periodo di registrazione. Per la rimozione del rumore ad alte frequenze è stato applicato un filtro passa-basso a 70 Hz. I tracciati EEG così ripuliti sono stati poi revisionati da due neurologi esperti in EEG allo scopo di identificare eventuali anomalie foto-indotte.

Per quanto riguarda la più complessa analisi del segnale RM, è stato utilizzato FEAT, un tool del pacchetto software FSL, distribuito gratuitamente dal Centro FMRI della Università di Oxford (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>). Il processamento preliminare (pre-processing) delle acquisizioni dei singoli soggetti è stato rappresentato da: (a) smoothing spaziale di 6 mm con kernel Gaussiano, (b) filtraggio temporale con 100" come cut-off per filtro passa-alto, (c) allineamento dei volumi al volume di riferimento e (d) correzione del timing di acquisizione delle slices.

Il sistema di analisi del segnale scelto è stato il General Linear Model (GLM). Sono stati identificati 4 regressori: (1) frequenza 10 Hz, (2) frequenza 15 Hz, (3) frequenza 20 Hz e (4) risposta fotoparossistica (PPR), quest'ultimo impiegato solo per i pazienti fotosensibili. La HRF scelta per modellare la risposta emodinamica è la HRF canonica. Sia gli stimoli luminosi che gli eventi PPR registrati per i pazienti fotosensibili sono stati inseriti considerando i rispettivi inizio e durata, e si è proceduto a convoluzione con la HRF canonica, ponendo a confronto i regressori e il segnale rilevato allo scopo di determinare una correlazione diretta o inversa. Questa convoluzione consente di ottenere le classiche mappe di attivazione e di deattivazione delle aree cerebrali in relazione a ogni regressore. Nel nostro caso, le mappe di attivazione ottenute sono: mappa di attivazione per LLVS a 10Hz, per LLVS 15Hz, per LLVS a 20Hz, e mappa di attivazione in relazione agli eventi (ovvero, le anomalie foto-indotte nei soggetti che hanno mostrato PPR). Analogamente, per quanto riguarda le deattivazioni, abbiamo ottenuto: mappa di deattivazione per LLVS 10 Hz, per LLVS a 15 Hz, per LLVS 20 Hz, e mappa di deattivazione in relazione agli eventi.

Ogni mappa statistica del singolo soggetto è stata poi “sovrapposta” a un modello volumetrico di riferimento per l'anatomia del sistema nervoso centrale, nel nostro caso il MNI152 template image (*Montreal Neurological Institute*). Il passaggio successivo ha previsto l'analisi di gruppo per ogni contrasto ottenuto dall'analisi a singolo soggetto, utilizzando il “Fixed Model”. Si sono così calcolate le medie di gruppo per l'attivazione e la deattivazione dei contrasti per 10 Hz, 15 Hz, 20 Hz ed eventi. Ogni mappa statistica è stata ottenuta con soglia corretta di cluster $z = 2.3$ e p-value di 0.05.

In aggiunta, per identificare le modificazioni dinamiche del segnale BOLD nel corso della risposta fotoparossistica, nei 7 pazienti risultati fotosensibili è stata eseguita un'analisi dell'andamento temporale del segnale BOLD in relazione agli eventi PPR. Per ogni soggetto fotosensibile, sono stati impiegati 12 GLM con 2 regressori: regressore “lamp” e regressore “eventi PPR”. Il regressore “lamp” è costituito dal raggruppamento dei 3 regressori delle frequenze della precedente analisi; ne è stata ottenuta convoluzione con la HRF canonica, allo scopo di ottenere le mappe di attivazione e deattivazione, analogamente a quanto sopra descritto per gli altri regressori. Per il regressore “eventi PPR”, le relative mappe sono state anch'esse ottenute con la HRF canonica, ma in questo caso è stata inserita anche una componente dinamica: si sono ovvero ottenute mappe di attivazione e deattivazione “momento per momento”, impiegando shift temporali di 2.5 s, a partire da circa 15 s prima dell'onset della PPR fino a 15 s dopo l'onset degli eventi. In tal modo, il

lasso temporale esplorato da questo approccio dinamico risulta di 30 s, con mappe di attivazione e deattivazione che “fotografano” la situazione ogni 2.5 s. Come sopra, è stata poi effettuata l'analisi a gruppo per ciascun contrasto ottenuto dall'analisi a singolo soggetto impiegando il “Fixed Model”, e ciò ha condotto alle medie di gruppo per l'attivazione e la deattivazione in relazione ai regressori “lamp” ed “eventi PPR” in ogni intervallo temporale. Le mappe statistiche sono state realizzate con soglia corretta di cluster $z = 4.0$ e p-value di 0.05.

Protocollo EEG-SLI convenzionale e confronto con LLVS deep red: metodi e analisi dei dati

Un sottogruppo dei pazienti precedentemente sottoposti a EEG-fMRI è stato poi richiamato al fine di svolgere un EEG di routine con metodica SLI convenzionale. Hanno acconsentito 7 pazienti su 10. Gli EEG sono stati effettuati in laboratorio tramite poligrafo EEG digitale (*BElite, EBNeuro, Firenze*). Il segnale è stato registrato tramite cuffia con elettrodi posizionati secondo il Sistema 10-20 (*Electrocap, ECI, Ohio, USA*), ed è stato acquisito anche il segnale elettrocardiografico tramite un elettrodo cutaneo addizionale. I tracciati EEG sono stati valutati tramite montaggi longitudinali e trasversi bipolari, oltre a montaggi monopolari. L'iperventilazione è stata effettuata al termine della registrazioni, secondo uno schema della durata di 3 minuti, seguiti da 2 minuti di osservazione in post-stato. Per la procedura di SLI è stata impiegato uno stimolatore fotico standard EBNeuro, con lampada stroboscopica posizionata a 30 cm dal nasion del soggetto, posto in posizione semi-reclinata. L'emissione di *flickers* luminosi è avvenuta con luminanza di 3000 cd/m^2 , in condizione di semi-oscurità. Sono stati applicati tre protocolli di SLI nella sequenza sotto riportata, con un intervallo tra l'uno e l'altro di 2 minuti in cui ai soggetti veniva richiesto di rimanere a occhi chiusi:

- (1) Il primo protocollo presentava caratteristiche di stimolazione identiche a quanto effettuato nello scanner RM, differenziandosi per il solo impiego della luce stroboscopica: stimoli in blocchi di 20 s alternati a periodi di riposo di 15 s, frequenze 10-15-20 Hz somministrate in ordine casuale, con ripetizione di ogni frequenza 5 volte.
- (2) Il secondo protocollo prevedeva la somministrazione della SLI secondo le linee guida ILAE 2002 (Flink et al., 2002), con frequenze di stimolazione a 1-2-4-6-8-10-12-14-16-18-20-60-50-40-30 e 25 Hz in questo ordine; i periodi di stimolazione per ciascuna

frequenza duravano 10 s, di cui i primi 5 s a occhi aperti e i secondi 5 s a occhi chiusi, con intervallo tra un periodo e l'altro di 10 s.

- (3) Il terzo protocollo prevedeva la somministrazione della SLI secondo le nuove linee guida ILAE 2012 (Kasteleijn-Nolst Trenité et al., 2012), con valutazione della fotosensibilità in tre condizioni: occhi chiusi, occhi aperti, e chiusura degli occhi all'inizio della SLI. Per ciascuna condizione, venivano somministrati treni di stimoli della durata di 5 s intervallati da 10 s di riposo, con le seguenti frequenze: 1-2-6-8-9-10-13-15-18-20-23-25-30-40-50-60-50-40-30-25 Hz.

Durante l'acquisizione del suddetto EEG i soggetti sono stati sottoposti a osservazione continua, con monitoraggio dell'EEG in tempo reale da parte di specialista Neurologo, allo scopo di interrompere la stimolazione nel caso di crisi o di PPR prolungata. I soggetti sono stati invitati a interagire con lo specialista nel caso occorressero sensazioni spiacevoli durante l'esecuzione della SLI.

RISULTATI

Popolazione in esame

La coorte di 10 pazienti è costituita da 8 femmine e 2 maschi (età mediana 27.5 anni, intervallo 16-50 anni) (Tabella 2). Il gruppo di controlli inclusi presenta la medesima distribuzione di genere, con età mediana di 27 anni (intervallo 22-30 aa). Le sequenze RM morfologiche non hanno evidenziato anomalie in alcuno dei pazienti e dei controlli. Nessun soggetto era altresì affetto da disturbi del visus. Tutti i pazienti JME avevano presentato in anamnesi almeno un EEG con punte e poli-punte/onda.

La semeiologia delle crisi in anamnesi: era generalizzate tonico-cloniche (n=9/10), crisi miocloniche (n=10/10), assenze (n=2/10).

Paziente	Età (aa)	Genere	Età di esordio (aa)	Durata di malattia (aa)	Terapia attuale (mg/die)
1	27	F	13	14	LTG 400
2	28	M	19	10	VPA 1000 LEV 1000
3	26	F	20	6	LTG 300 LEV 2500
4	50	F	20	30	VPA 1000 LTG 200
5	37	F	7	30	Sine terapia
6	25	F	12	13	ETS 750
7	43	F	15	28	VPA 800
8	30	M	12	18	VPA 1000
9	25	F	21	4	LTG 200
10	16	F	16	0.5	VPA 400

Tabella 2.

Caratteristiche della popolazione di pazienti JME. VPA=acido valproico; LTG=lamotrigina; LEV=levetiracetam; ETS=etosuccimide

Risultati dell' EEG con LLVS eseguito durante la RM

Sono state rilevate anomalie foto-indotte in 7 pazienti su 10 (70%), e per ciascun paziente fotosensibile l'attivazione del tracciato EEG è risultata preferenzialmente confinata a una specifica frequenza di stimolazione (Tabella 3; Figure 15 e 16).

Paziente	Età (aa)	Genere	PPR	10 Hz	15 Hz	20 Hz
1	27	F	NO	-	-	-
2	28	M	SÌ	-	-	++
3	26	F	NO	-	-	-
4	50	F	SÌ	++	+	+
5	37	F	SÌ	+	++	+
6	25	F	SÌ	+	-	++
7	43	F	NO	-	-	-
8	30	M	SÌ	+	++	-
9	25	F	SÌ	++	-	-
10	16	F	SÌ	-	+	++

Tabella 3.

Pattern di fotosensibilità nei pazienti con JME; ++ = frequenza maggiormente provocativa; + = frequenza provocativa)



Figura 15. Esempio di tracciato normale. Controllo, soggetto di sesso femminile, 27 anni.

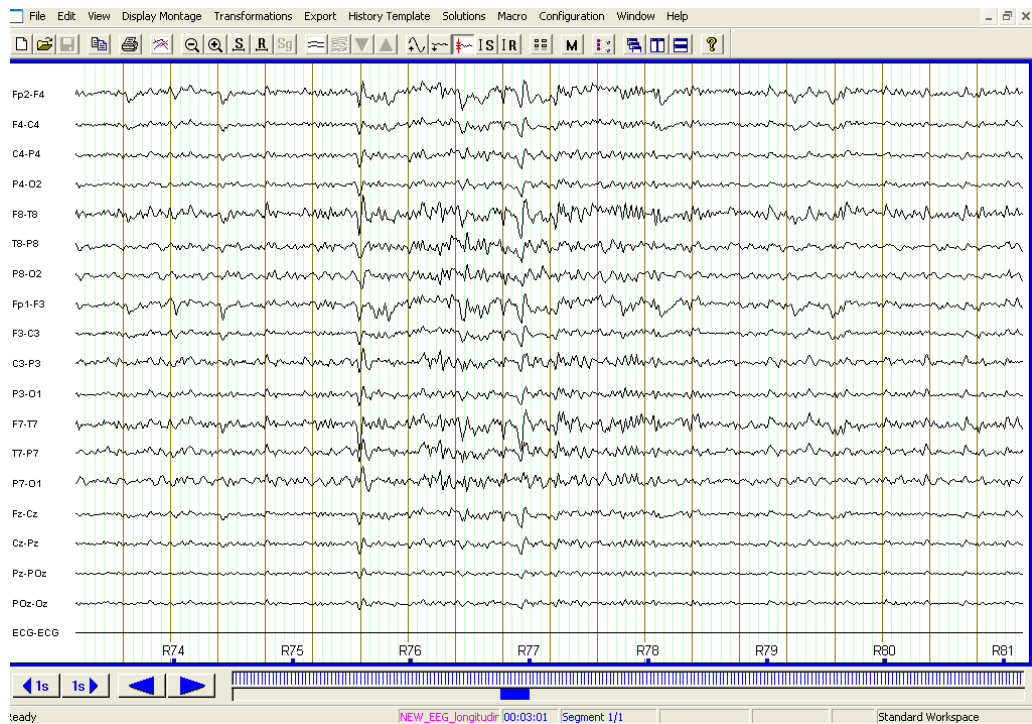


Figura 16. Esempio di PPR. Paziente 5.

Risultati dell'analisi EEG-fMRI

Sono state osservate differenze significative nell'andamento del segnale BOLD tra la corteccia dei pazienti JME e i controlli. Per quanto riguarda le aree in attivazione in relazione allo stimolo luminoso, si è osservato (Figure 17-18-19):

- (1) Una risposta costante di RSN1 a tutte le frequenze di stimolazione (10, 15 e 20 Hz), lievemente maggiore nei controlli rispetto ai pazienti ($\alpha > 2.33$, $p\text{-cluster} < 0.05$).
- (2) Un'attivazione bilaterale dello striato (putamen) nei controlli sani per la frequenza di 20 Hz, assente nei pazienti ($\alpha > 2.33$, $p\text{-cluster} < 0.05$).

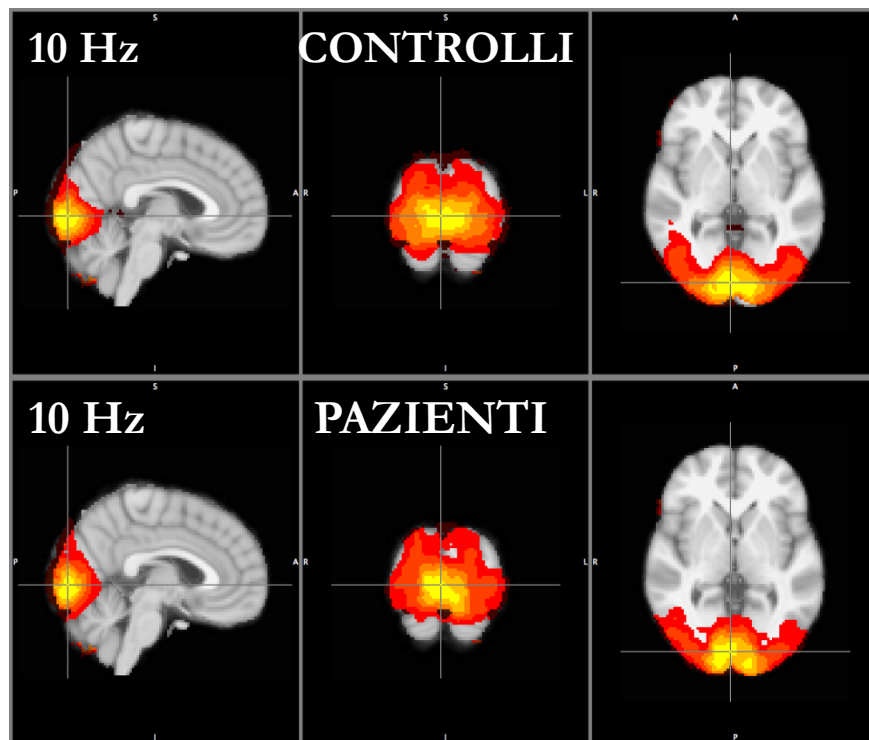


Figura 17. Attivazioni – Frequenza 10 Hz.

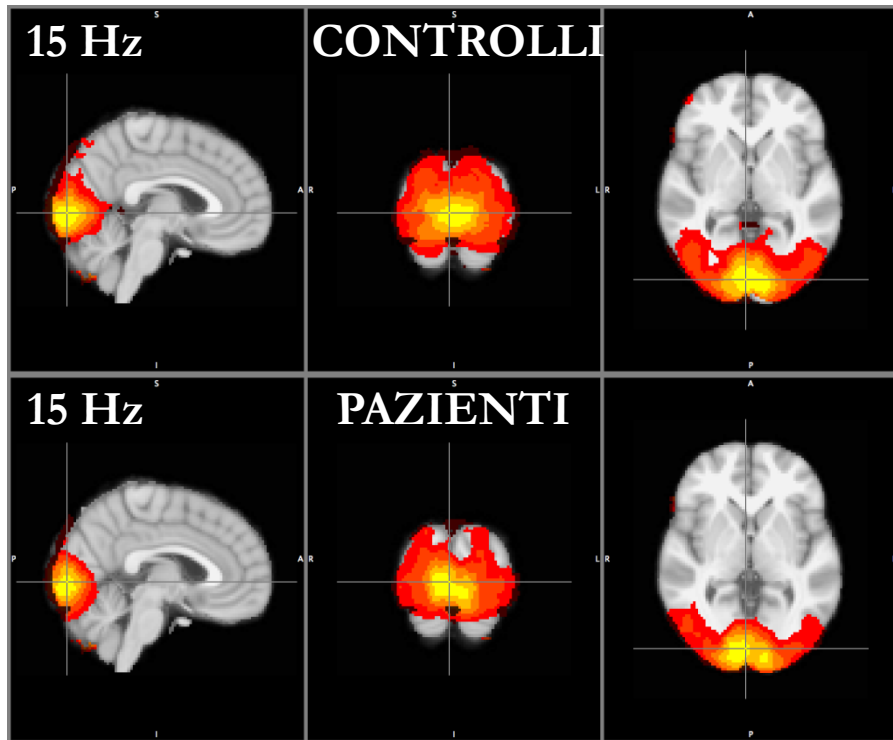


Figura 18. Attivazioni – Frequenza 15 Hz.

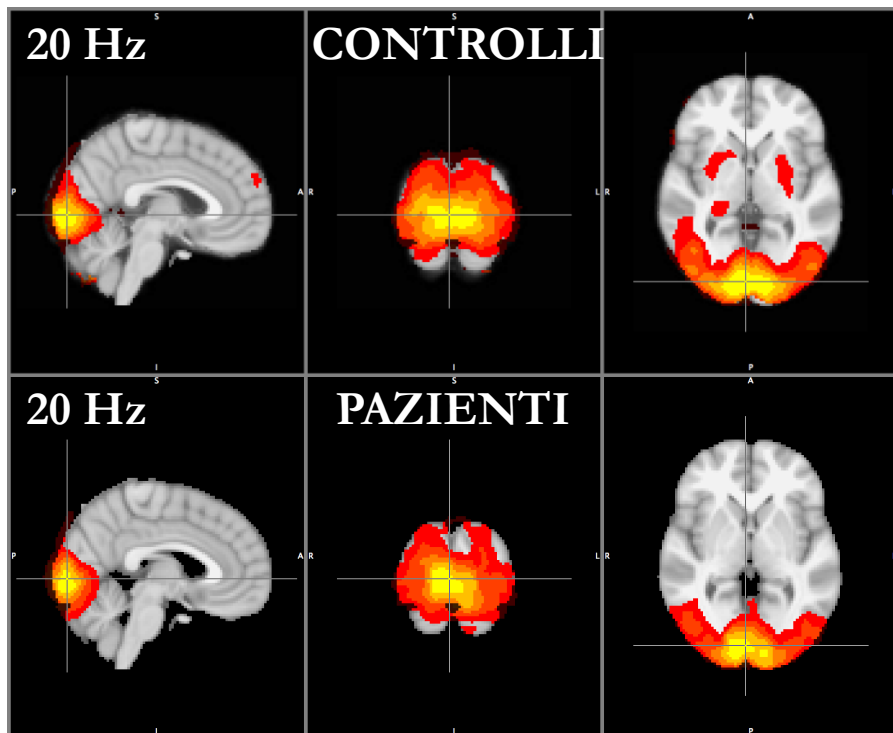


Figura 19. Attivazioni – Frequenza 20 Hz.

Per quanto riguarda le deattivazioni, si sono rilevate differenze significative tra pazienti e controlli (Figure 20-21-22):

- (1) Nei pazienti è risultata prevalente l'attivazione della RSN2, in particolar modo nella sua componente posteriore ($\alpha > 2.33$, $p\text{-cluster} < 0.05$).
- (2) Nei controlli ha invece prevalso la deattivazione della RSN3 ($\alpha > 2.33$, $p\text{-cluster} < 0.05$).

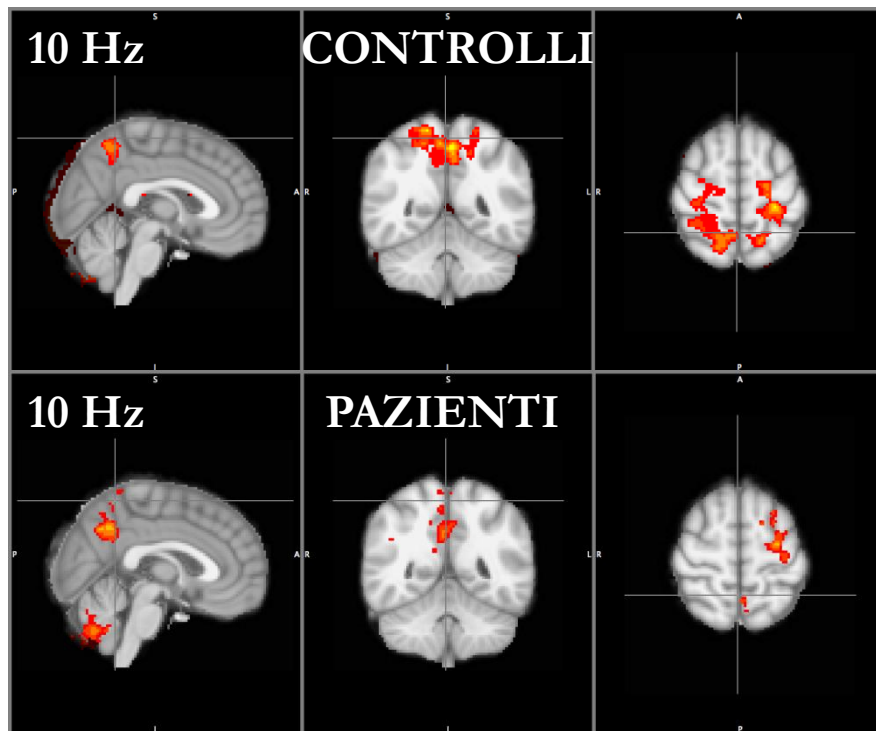


Figura 20. Deattivazioni – Frequenza 10 Hz.

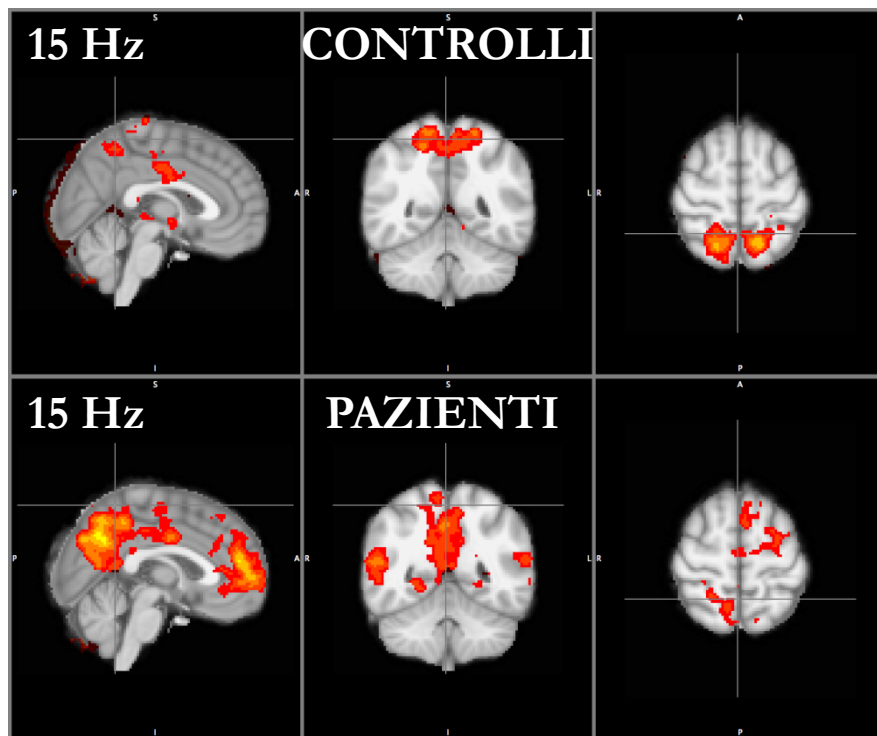


Figura 21. Deattivazioni – Frequenza 15 Hz.

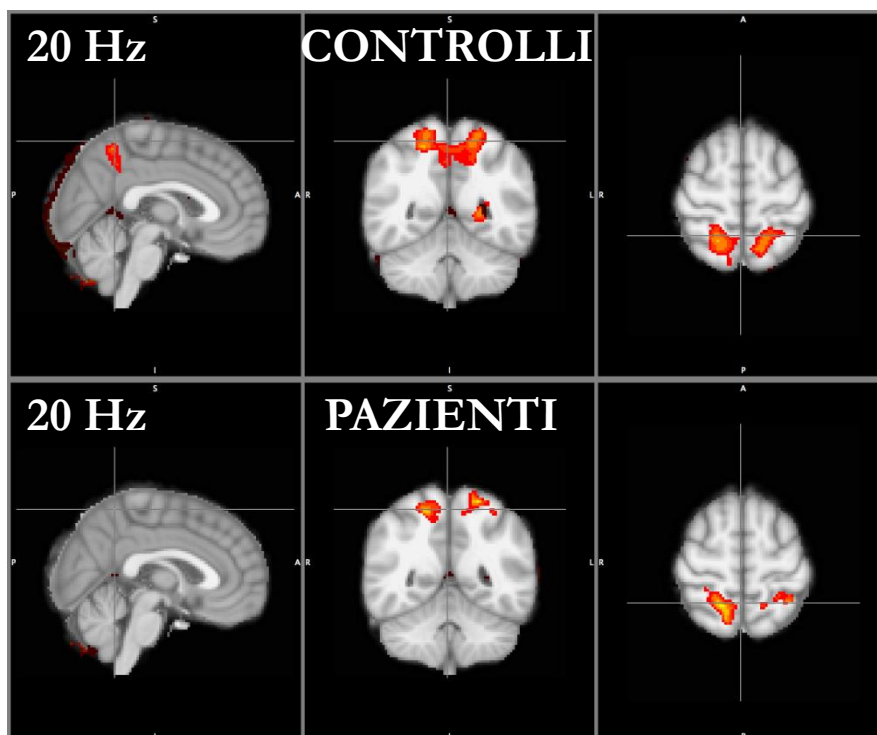


Figura 22. Deattivazioni – Frequenza 20 Hz.

Per quanto riguarda l'analisi di gruppo della risposta BOLD associata al regressore PPR, nel sottogruppo di pazienti fotosensibili, abbiamo evidenziato (Figure 23-24):

- (1) L'attivazione bilaterale del talamo e delle strutture costituenti la RSN3 ($z > 4.0$, $p\text{-cluster} < 0.05$).
- (2) La deattivazione del putamen ($z > 2.33$, $p\text{-cluster} < 0.05$).

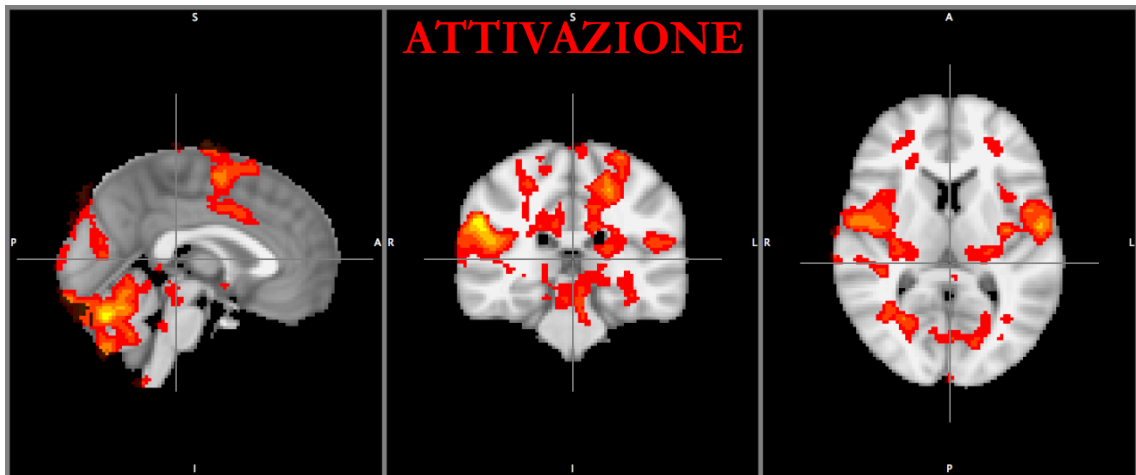


Figura 23. Regressore PPR – Attivazioni.

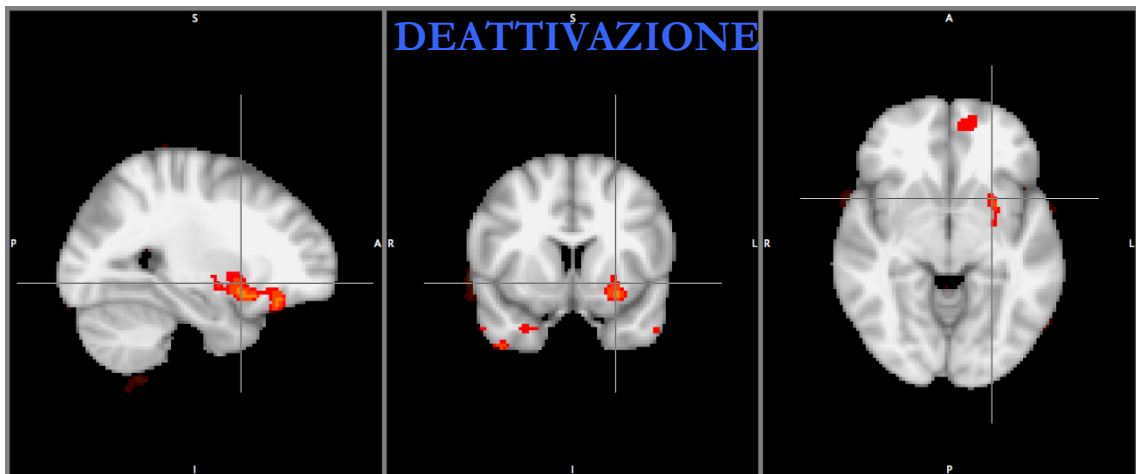


Figura 24. Regressore PPR – Deattivazioni.

L'analisi dinamica della risposta BOLD associata PPR ha rivelato l'interessamento di varie aree cerebrali in intervalli temporali distinti.

Da -15 secondi a -2.5 secondi dalla PPR non abbiamo evidenziato alcuna attivazione né deattivazione. I risultati ottenuti da -2.5 secondi a +15 secondi sono rappresentati nelle Figure 25-26-27-28-29-30-31. I fenomeni dominanti sono l'attivazione del putamen subito prima della PPR, e l'attivazione della RSN3 e del talamo dopo l'anomalia (picco a 2.5-5 secondi). Successivamente diventano prevalenti i fenomeni di deattivazione: RSN3, striato bilateralmente, RSN2 nella sua componente anteriore ($\alpha > 4.0$, $p\text{-cluster} < 0.05$).

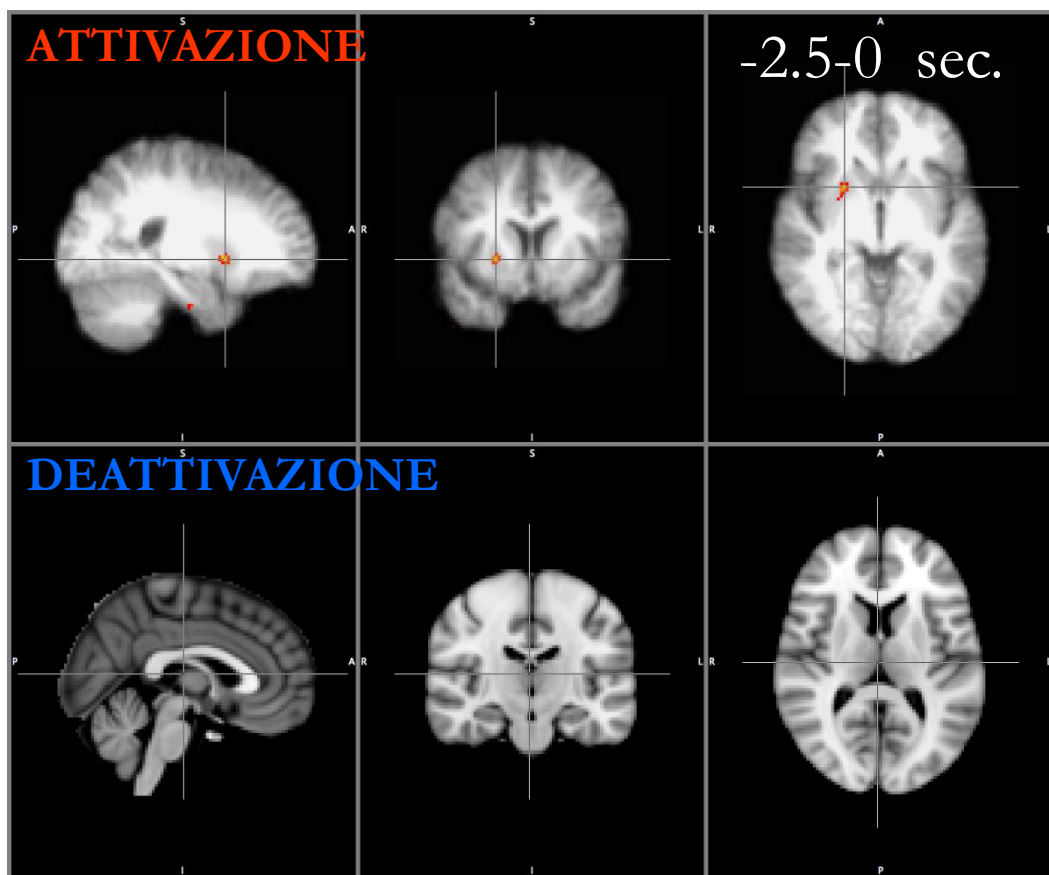


Figura 25. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: -2.5- 0 s.

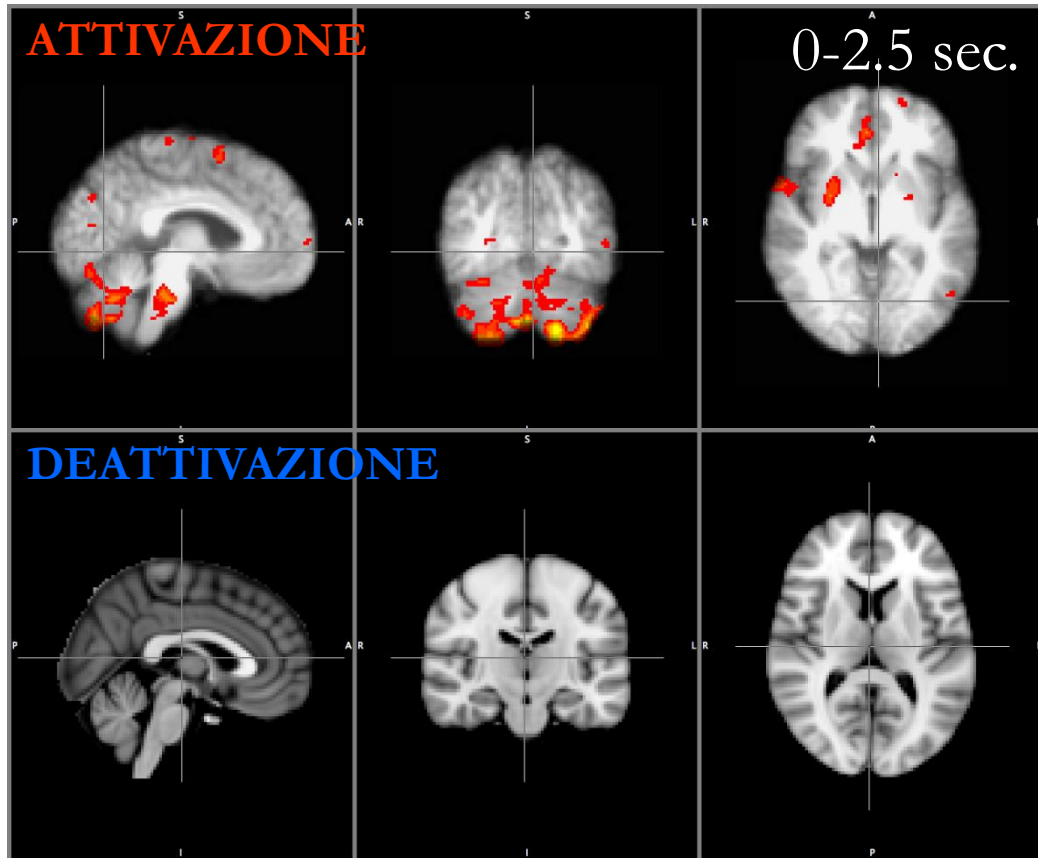


Figura 26. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 0-2.5 s.

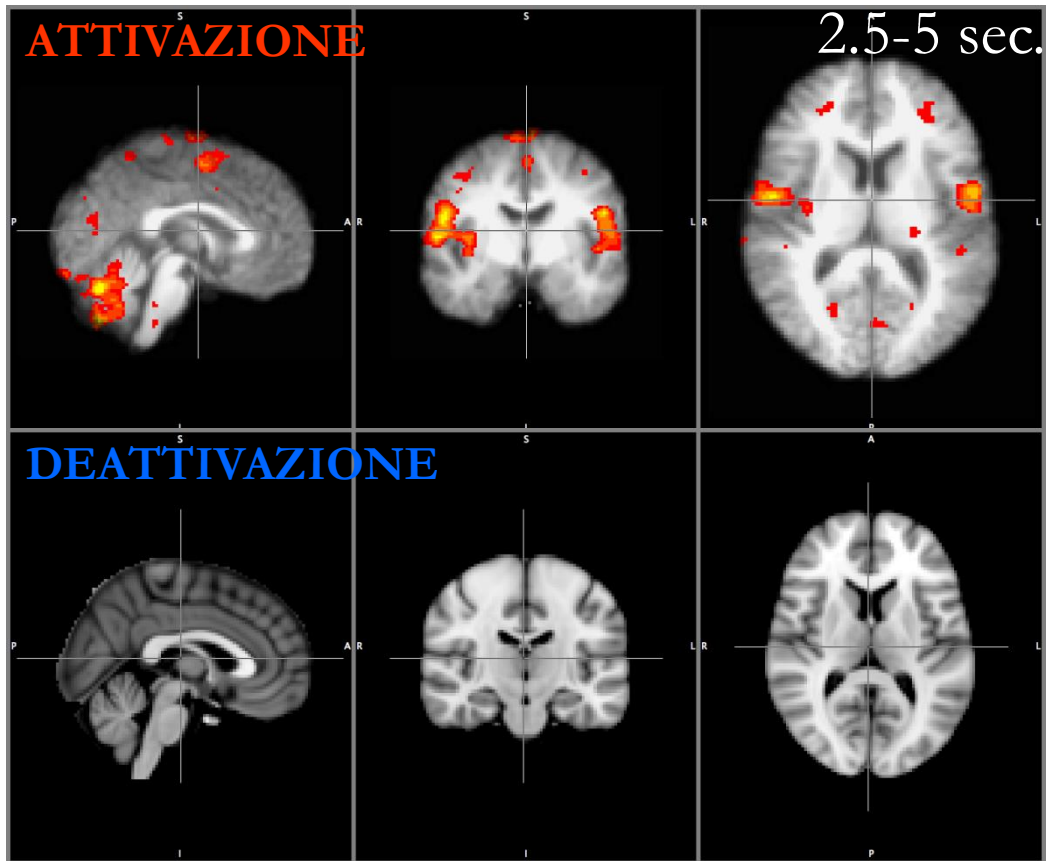


Figura 27. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 2.5-5 s.

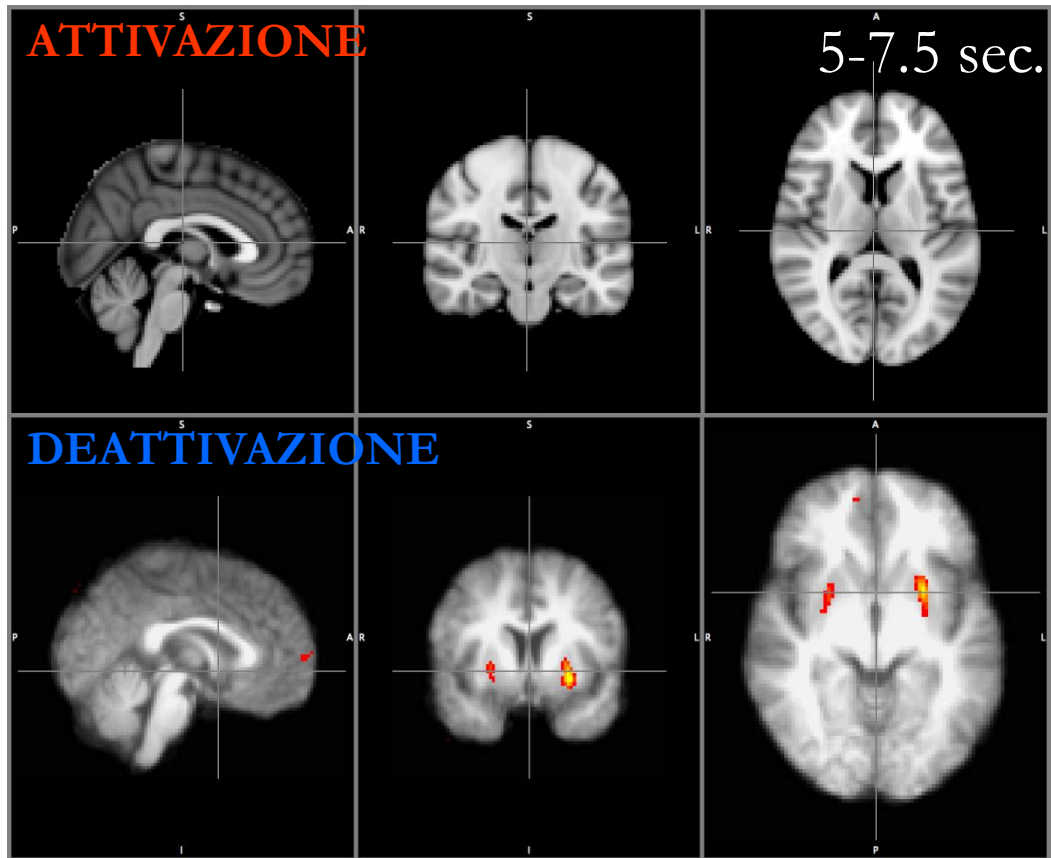


Figura 28. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 5-7.5 s.

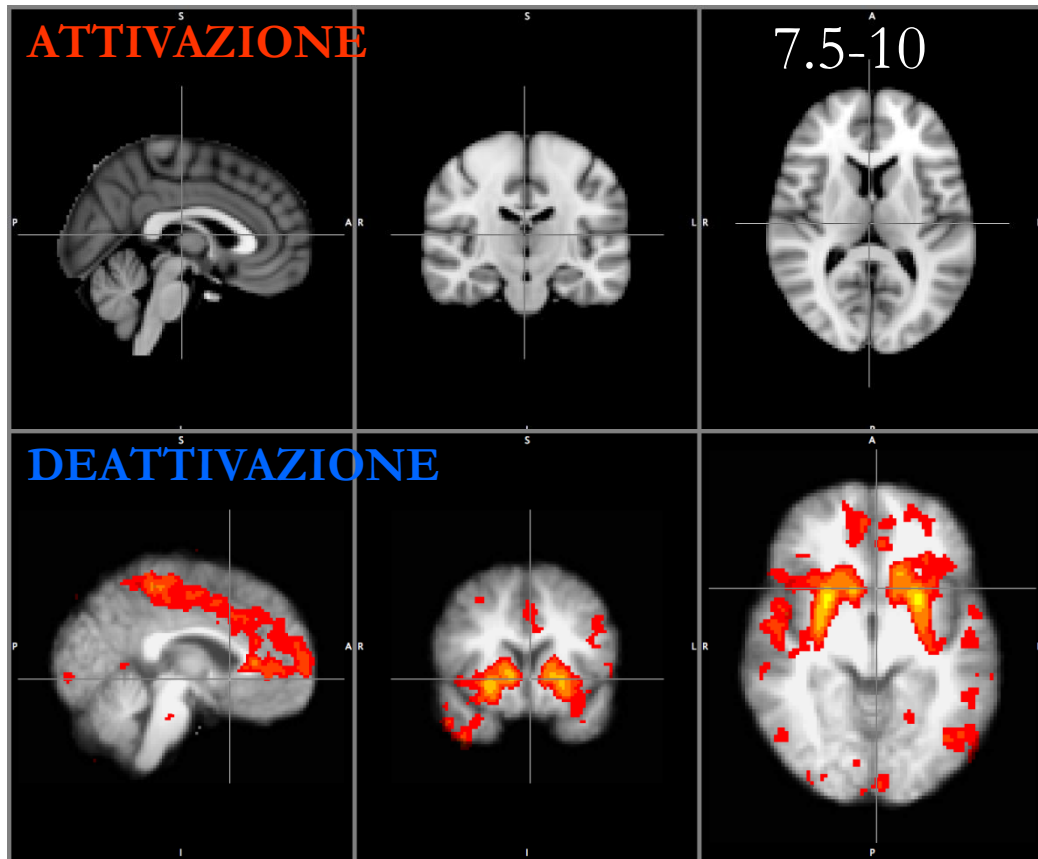


Figura 29. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 7.5-10 s.

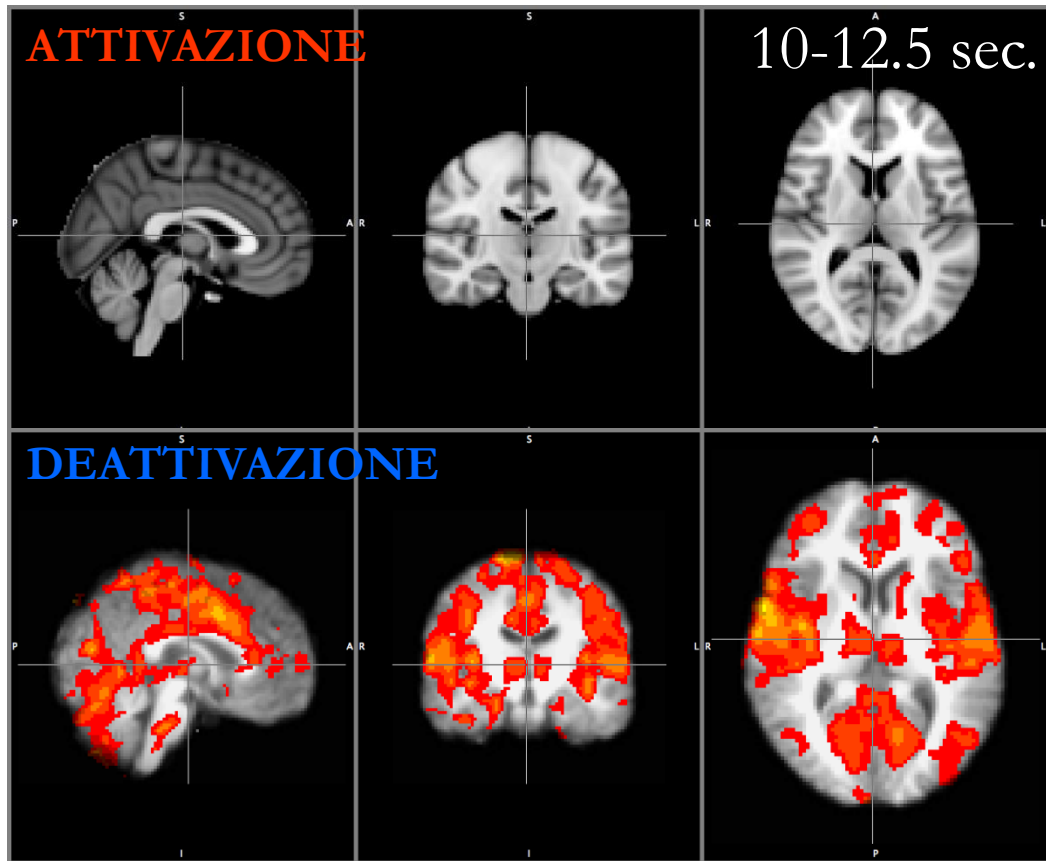


Figura 30. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 10-12.5 s.

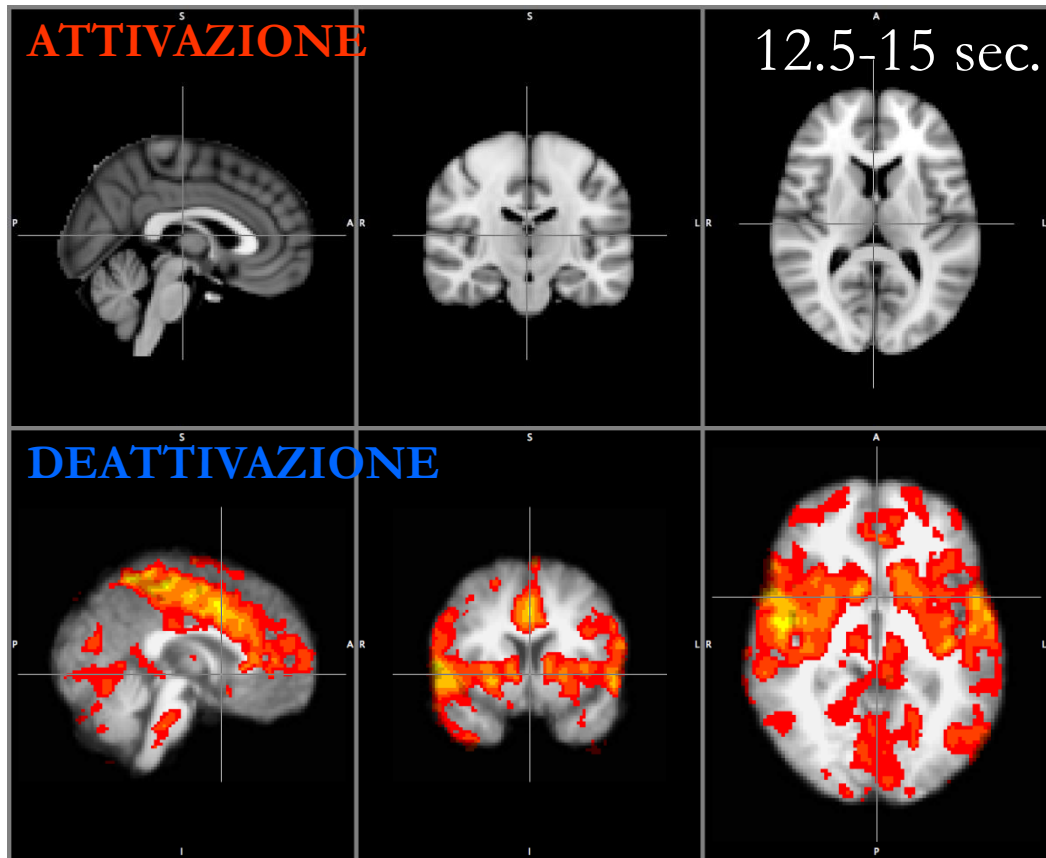


Figura 31. Analisi dinamica della risposta BOLD – finestra temporale: 12.5-15 s.

Risultati dell'EEG con SLI convenzionale e confronto con LLVS

Nel sottogruppo di 7 pazienti in cui è stato eseguito un EEG con protocollo di SLI convenzionale, 2 pazienti hanno presentato risposta fotoparossistica (28.6%). La Tabella 4 ne riporta i dettagli, insieme a un confronto dei risultati ottenuti in RM con la metodica LLVS. Quest'ultima si è dimostrata più provocativa nel 42.8% dei casi, con trend verso la significatività statistica ($p = 0.12$, test esatto di Fisher).

Paziente	Età(aa)	Genere	PPR-LLVS	Frequenza	PPR -SLI	Frequenza
1	27	F	NO	-	NO	-
2	28	M	SÌ	20 Hz	NO	-
3	26	F	NO	-	NO	-
5	37	F	SÌ	10-15-20 Hz	SÌ	4-6-10-13-15- 16-18-20-24- 25-30 Hz
6	25	F	SÌ	10-20 Hz	SÌ	10-15-30 Hz
8	30	M	SÌ	10-15 Hz	NO	-
9	25	F	SÌ	10 Hz	NO	-

Tabella 4. Confronto di provocatività tra LLVS e SLI convenzionale.

La tabella confronta, in pazienti JME, i risultati dell'esecuzione di un EEG con LLVS e luce rossa nell'ambito del *deep red* con quanto ottenuto in laboratorio EEG tramite SLI con luce stroboscopica standard. Si evidenzia la maggior provocatività della LLVS.

DISCUSSIONE

A oggi, il presente studio rappresenta la prima dimostrazione dell'applicazione di una metodica affidabile di stimolazione luminosa intermittente, durante uno studio EEG-fMRI, su una coorte di pazienti epilettici con omogeneità sindromica, affetti da epilessia mioclonica giovanile (JME).

Abbiamo confrontato l'andamento del segnale BOLD fra pazienti JME e controlli durante la somministrazione intra-scanner RM di stimolazione a bassa luminanza (LLVS), basata sull'alternanza *deep red*/nero, di cui precedenti lavori hanno evidenziato il peculiare potenziale provocativo. Nei pazienti in cui è stata osservata la comparsa di risposta fotoparossistica (PPR), è stata condotta una sotto-analisi volta a valutare l'andamento del segnale emodinamico BOLD in relazione ad essa.

È stato deciso di valutare pazienti affetti da JME in ragione dell'omogeneità eziologica, clinica ed elettrofisiologica dei pazienti affetti da questa forma sindromica, e poiché essi presentano tassi caratteristicamente elevati di PPR, utile e riproducibile fenomeno sulla base del quale modellizzare l'elaborazione dei dati EEG-fMRI.

Abbiamo confermato, in una casistica di pazienti JME selezionati, la validità del protocollo di LLVS basato sull'alternanza *deep red*/nero. I nostri risultati sono in linea con quanto affermato circa la provocatività della stimolazione a bassa luminanza da Takahashi e collaboratori (Takahashi et al., 1999b), che per primi ne hanno validato l'utilizzo ancorché in una casistica di pazienti epilettici non omogenea. Sono confermate anche le evidenze circa la specificità per una determinata lunghezza d'onda (*deep red*) della PPR in pazienti affetti da IGE (Takahashi et al., 1995). Sulla base di questi risultati, sarebbe da prospettare un più ampio utilizzo della stimolazione a bassa luminanza come prova di attivazione negli EEG di routine, data la sua maggior sensibilità soprattutto per soggetti per cui sia stato posto un sospetto diagnostico di JME o di altre sindromi IGE.

In relazione alla stimolazione luminosa durante EEG-fMRI, abbiamo notato l'attivazione della corteccia visiva striata e della RSN1 sia in pazienti JME che in soggetti sani, con lieve prevalenza di attivazione in questi ultimi. Nei pazienti è stata inoltre osservata la deattivazione della componente posteriore della RSN2 (*default mode network*) per tutte le frequenze di stimolazione, mentre nei pazienti si è invece riscontrata la deattivazione di aree di pertinenza di RSN3. Alla frequenza di stimolazione di 20 Hz è stata individuata, solamente a carico dei controlli sani, un'attivazione bilaterale del putamen.

L'interpretazione dei risultati ottenuti a carico di RSN1, in cui si vede un'attivazione lievemente maggiore nei controlli rispetto ai pazienti, è complessa. È stato in precedenza illustrato come i pazienti fotosensibili presentino un'ipereccitabilità a a carico della corteccia occipitale (Strigaro et al., 2012; Siniatchkin et al., 2007a, 2007b) associata ad alterazioni dell'integrazione visuo-motoria. Tale ipereccitabilità dei soggetti fotosensibili sembrerebbe derivare da un'inefficacia da parte di meccanismi inibitori nell'impedire l'aumento di sincronia in banda gamma in relazione alla stimolazione luminosa, con perdita di controllo sui processi oscillatori ad alta frequenza (Parra et al., 2003). Dal momento che il segnale BOLD è il correlato di un fenomeno emodinamico, influenzato sia dall'attivazione di neuroni eccitatori che di neuroni inibitori (Vulliemoz et al., 2010), è lecito ipotizzare che le differenze viste in RSN1 tra pazienti e controlli rappresentino un'alterazione della regolazione dei circuiti eccitatori-inibitori intracorticali nel gruppo dei pazienti.

Di particolare interesse risulta l'interpretazione dei dati ottenuti a carico di RSN3 nei controlli. La deattivazione durante LLVS riscontrata a livello delle aree di questa rete, con funzione di controllo motorio, è stata da noi interpretata come testimonianza di processi inibitori a carico di regioni deputate alla preparazione e all'attuazione del movimento. Il fatto che tale deattivazione non sia presente nei pazienti affetti JME conferisce maggior significato a quest'ipotesi. I nostri risultati sono in linea con studi di elettrofisiologia, effettuati con metodica TMS, che hanno dimostrato un'inibizione del sistema motorio in soggetti sani, ma non in pazienti fotosensibili, durante stimolazione luminosa intermittente (Groppa et al., 2008, Strigaro et al., 2013).

E' secondo noi un dato particolarmente interessante anche il riscontro dell'attivazione dello striato (putamen) a 20 Hz nei controlli sani, ma non nei pazienti JME. Ciò potrebbe rappresentare l'insuccesso di un meccanismo sottocorticale di *gating*, volto a impedire che l'eccitazione indotta dalla stimolazione visiva possa risultare nell'attuazione di schemi motori critici. Il fatto che tale attivazione sia assente nei pazienti JME, e si associ all'assenza della deattivazione di RSN3, potrebbe indicare una loro mancata inibizione della risposta motoria, con maggior predisposizione a conseguenze motorie patologiche in concomitanza di stimolazione luminosa intermittente.

Per quanto riguarda la deattivazione di RSN2 (DMN) nei pazienti JME, vi sono evidenze che attribuiscono alla componente postero-mediale del DMN un ruolo nell'integrazione visuo-spaziale (Uddin et al., 2009). In particolare, sembra che l'attività del DMN risulti in un'inibizione attiva a carico delle aree motorie, e che questa abbia il significato di mantenere il livello di attivazione motoria a riposo sotto-soglia, così da impedire un'attivazione motoria inappropriata (Jaffard et al., 2008). In tal contesto, la deattivazione

di RSN2 avrebbe il significato di una ridotta inibizione motoria durante SLI, con maggior predisposizione alla messa in atto di schemi motori patologici.

L'analisi del segnale BOLD nel sottogruppo di pazienti JME che ha presentato anomalie foto-indotte (PPR) si è rivelata fonte complementare di risultati di estremo interesse. Utilizzando come evento modello la comparsa di PPR, e applicando un modello di risposta emodinamica con picco a 5.5 secondi di distanza dall'anomalia EEG, si sono rilevate l'attivazione di talamo e RSN3, associate a una deattivazione bilaterale del putamen. L'analisi dinamica della risposta BOLD in relazione alla PPR, effettuata considerando le modifiche del segnale fMRI intercorse in un intervallo di tempo compreso tra -15 e +15 secondi rispetto all'anomalia EEG, si è resa necessaria allo scopo di meglio caratterizzare la dinamica degli eventi precedenti e successivi al fenomeno parossistico. Con questo approccio, abbiamo individuato un'attivazione del putamen prima della PPR, seguita dall'attivazione di RSN3 e talamo subito dopo l'anomalia, con picco a 2.5-5 secondi. Da 5 a 15 secondi dopo la PPR si sono prevalentemente registrati fenomeni di deattivazione, a carico di RSN3, striato bilateralmente e RSN2 nella sua componente anteriore.

Pertanto, si ribadisce nel complesso il ruolo centrale svolto dalla modifica del segnale a livello dei nuclei della base. Verosimilmente, esso potrebbe costituire l'anello mancante del *core* fisiopatologico della JME, le cui componenti principali verrebbero a essere rappresentate da nuclei della base, talamo anteriore e aree corticali frontali raggruppate in RSN3. Coerentemente con quanto appena affermato, abbiamo identificato tanto l'attivazione del talamo quanto di RSN3, assieme a quella del putamen, nell'analisi dinamica della risposta BOLD in relazione a PPR. Tale attivazione iniziale, in pazienti JME fotosensibili, potrebbe acquisire il significato di reclutamento di strutture diffuse, e di preparazione all'attuazione di schemi motori. La successiva deattivazione massiva a carico di putamen, RSN3 e componenti del default mode network, potrebbe così avere un ruolo nell'impedire la perpetuazione o propagazione delle scariche epilettiformi indotte dalla SLI.

Il coinvolgimento del sistema talamo-corticale frontale nella fisiopatologia della JME è stato avanzato in una serie di studi precedenti, che hanno visto come a una ridotta connettività strutturale tra talamo e aree frontali motorie corrispondesse una diminuita coerenza funzionale delle loro attività (O' Muirheartaigh et al., 2012). Tali autori hanno anche postulato il coinvolgimento bilaterale del putamen in tale circuito, sulla base della coerenza funzionale esistente tra l'attività putaminale e quella del circuito alterato durante un compito di fluency verbale fonemica. Altri autori hanno suggerito un interessamento del

putamen nel contesto di alterazioni dei circuiti fronto-striatali in pazienti JME, avendo rilevato anomalie microstrutturali e volumetriche a carico di questa struttura (Keller et al., 2011).

Il putamen, parte dello striato, è una componente fondamentale del circuito scheletrico-motorio del nuclei della base, che nei primati origina dalle aree motorie precentrali e sensitive post-centrali e proietta principalmente al putamen. Esso rappresenta quindi una sede di integrazione sensori-motoria di informazioni relative al movimento e dei segnali a feed-back in rapporto all'esecuzione del movimento. I neuroni efferenti del putamen sono inibitori, e proiettano alle strutture di *output* dei nuclei della base: globus pallidus interno (GPi) e pars reticulata della sostanza nigra (SNpr), che esercitano a loro volta un'inibizione tonica sulle loro strutture target talamiche, i nuclei ventrale anteriore, ventrale laterale e centro-mediano. Una ridotta attività di GPi e SNpr risulta in ultima analisi in un effetto eccitatorio netto sulle aree motorie (Figura 32) (Alexander et al., 1986). Tuttavia, il tono inibitorio globale dei nuclei efferenti è modulato tramite due vie parallele, la via diretta (effetto netto sulla corteccia: eccitatorio), e la via indiretta (effetto netto sulla corteccia: inibitorio). Tali vie presentano espressione preferenziale di sottotipi distinti di recettori dopaminergici (Joel et al., 2000). È stato recentemente osservato, tramite studi PET, la presenza di una disfunzione della trasmissione dopaminergica in pazienti JME, nei termini di un ridotto potenziale di legame al Dopamine Active Transporter (DAT) nella sostanza nigra e nel mesencefalo (Ciumas et al., 2008), e ai recettori D2/D3 nel putamen posteriore (Landvogt et al., 2010). Secondo Landvogt e collaboratori, tali risultati potrebbero essere imputabili a un'elevazione tonica dei livelli putaminali di dopamina, che renderebbe conto dello spiazzamento del tracciante (Landvogt et al., 2010). Le osservazioni epidemiologiche circa una correlazione inversa tra parkinsonismi, caratterizzati da deficit dopaminergico, ed epilessia, presuntivamente distinta da un eccesso di dopamina, sarebbe in linea con i risultati sopra menzionati (Vercueil et al., 2000). In realtà, tale interpretazione è quanto mai speculativa, essendo il ruolo della DA nelle epilessie un argomento ancora oggetto di intenso dibattito tra ricercatori (Starr, 1996).

Nell'interpretazione dei nostri risultati dobbiamo però tenere conto che circa la metà dei pazienti in analisi assumeva terapia anticomiziale con acido valproico, che è stato raramente associato con alcuni casi di parkinsonismo (Jamora et al., 2007). Vi sono inoltre sporadici case reports di parkinsonismo indotto da lamotrigina, assunta da 4 pazienti (Santens et al., 2006). Nonostante la completa assenza di manifestazioni cliniche riconducibili a disturbi

del movimento nei nostri pazienti, non possiamo escludere con certezza un ruolo dei suddetti farmaci sul metabolismo dei nuclei della base.

In sintesi, i nostri risultati mostrano che la stimolazione luminosa intermittente e la risposta parossistica, in pazienti JME, causano significative modificazioni del segnale BOLD a livello di una serie di aree appartenenti al circuito talamo-cortico-sottocorticale frontale. I nostri risultati sono in accordo con la teoria che vedrebbe la JME come *epilessia di sistema* (Avanzini et al., 2012), ovvero dipendente dalla disfunzione di un sistema cerebrale specifico. Il *core* fisiopatologico della JME potrebbe essere rappresentato in tal modo dall'aumentata suscettibilità epilettogena di un sistema, che vedrebbe talamo anteriore, aree corticali motorie e putamen come sue componenti principali.

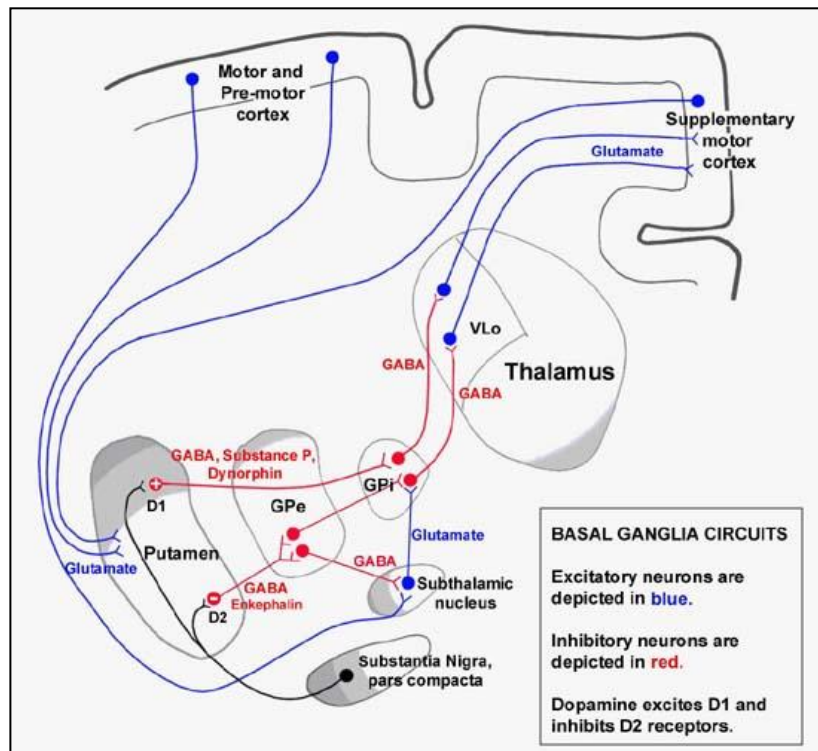


Figura 32. Circuito scheletro-motorio dei nuclei della base.

La Figura illustra schematicamente il circuito motorio scheletrico dei nuclei della base, che vede nel putamen un *hub* centrale di elaborazione e trasmissione degli impulsi. Sulla base dei nostri risultati, ipotizziamo che questo circuito rappresenti il *core* fisiopatologico della JME. Modificato da Alexander et al., 1986.

BIBLIOGRAFIA

- Aghakhani Y, Bagshaw AP, Bénar CG, Hawco C, Andermann F, Dubeau F, Gotman J, fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy, *Brain* 2004, 127(Pt 5), 1127-1144.
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL, Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex, *Ann Rev Neurosci* 1986, 9, 357-381.
- Allen PJ, Polizzi G, Krakow K, Fish DR, Lemieux L, Identification of EEG events in the MR scanner: the problem of pulse artifact and a method for its subtraction, *Neuroimage*. 1998, 8(3), 229-239.
- Allen PJ, Josephs O, Turner R, A method for removing imaging artifact from continuous EEG recorded during functional MRI, *Neuroimage* 2000, 12(2), 230-239.
- Appleton R, Beirne M, Acomb B, Photosensitivity in juvenile myoclonic epilepsy, *Seizure* 2000, 9(2), 108–111.
- Artieda J, Obeso JA, The pathophysiology and pharmacology of photic cortical reflex myoclonus, *Ann Neurol* 1993, 34(2), 175-184.
- Avanzini G, Manganotti P, Meletti S, Moshé SL, Panzica F, Wolf P, Capovilla G, The system epilepsies: a pathophysiological hypothesis, *Epilepsia* 2012, 53(5), 771-778.
- Bartolini E, Bell GS, Sander JW. Multicultural challenges in epilepsy, *Epilepsy Behav* 2011, 20(3), 428-434.
- Beckmann CF, Modelling with independent components, *Neuroimage* 2012, 62(2), 891-901.
- Beghi E, Berg A, Carpio A, Forsgren L, Hesdorffer DC, Hauser WA, Malmgren K, Shinnar S, Temkin N, Thurman D, Tomson T Comment on epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE), 2005 *Epilepsia* 46, 1698–9.
- Bell GS, Sander JW, The epidemiology of epilepsy: the size of the problem, *Seizure* 2001, 10(4), 306-314; quiz 315-316.
- Bénar C, Aghakhani Y, Wang Y, Izenberg A, Al-Asmi A, Dubeau F, Gotman J, Quality of EEG in simultaneous EEG-fMRI for epilepsy, *Clin Neurophysiol* 2003, 114(3), 569-580.

- Bénar CG, Grova C, Kobayashi E, Bagshaw AP, Aghakhani Y, Dubeau F, Gotman J, EEG-fMRI of epileptic spikes: concordance with EEG source localization and intracranial EEG, *Neuroimage* 2006, 30(4), 1161-1170.
- Benuzzi F, Mirandola L, Pugnaghi M, Farinelli V, Tassinari CA, Capovilla G, Cantalupo G, Beccaria F, Nichelli P, Meletti S, Increased cortical BOLD signal anticipates generalized spike and wave discharges in adolescents and adults with idiopathic generalized epilepsies, *Epilepsia* 2012, 53(4), 622-630.
- Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE, Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009, *Epilepsia* 2010, 51(4), 676-85.
- Binnie CD, Estevez O, Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Peters A, Colour and photosensitive epilepsy, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1984, 58(5), 387-391.
- Binnie CD, Findlay J, Wilkins AJ, Mechanisms of epileptogenesis in photosensitive epilepsy implied by the effects of moving patterns, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1985, 61(1), 1-6.
- Binnie CD, Harding GF, Richens A, Wilkins A, Video games and epileptic seizures--a consensus statement. Video-Game Epilepsy Consensus Group, *Seizure* 1994, 3(4), 245-246.
- Biswal BB, Van Kylen J, Hyde JS, Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps, *NMR Biomed* 1997, 10(4-5), 165-70.
- Blume WT, Luders HO, Mizrahi E, Tassinari C, Van Emde BW, Engel J.Jr., Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology, 2001 *Epilepsia* 42(9), 1212-1218.
- Blumenfeld H, Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures, *Epilepsia* 2005, 46(S9), 21-33.
- Brewer AA, Liu J, Wade AR, Wandell BA, Visual field maps and stimulus selectivity in human ventral occipital cortex, *Nat Neurosci* 2005, 8(8), 1102-1109.
- Brigo F, Bongiovanni LG, Nardone R, Trinka E, Tezzon F, Fiaschi A, Manganotti P, Visual cortex hyperexcitability in idiopathic generalized epilepsies with photosensitivity: a TMS pilot study, *Epilepsy Behav* 2013, 27(2), 301-306.

Broughton R, Meier-Ewert KH, Ebe M, Evoked visual, somato-sensory and retinal potentials in photosensitive epilepsy, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1969, 27(4), 373-386.

Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL, The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1124, 1-38.

Canevini MP, Mai R, Di Marco C, Bertin C, Minotti L, Pontrelli V, Saltarelli A, Canger R, Juvenile myoclonic epilepsy of Janz: clinical observations in 60 patients, *Seizure* 1992, 1(4), 291–298.

Cantello R, Civardi C, Cavalli A, Varrasi C, Vicentini R, Effects of a photic input on the human cortico-motoneuron connection, *Clin Neurophysiol* 2000 Nov, 111(11), 1981-1989.

Carney PW, Masterton RA, Harvey AS, Scheffer IE, Berkovic SF, Jackson GD, The core network in absence epilepsy. Differences in cortical and thalamic BOLD response, *Neurology* 2010, 75(10), 904-911.

Carterette EC, Symmes D, Color as an experimental variable in photic stimulation, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1952, 4(3), 289-296.

Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B, Shroff MM, Haacke EM, Principles, techniques, and applications of T2*-based MR imaging and its special applications, *Radiographics* 2009, 29(5), 1433-1449.

Chiappa KH, Hill RA, Huang-Hellinger F, Jenkins BG, Photosensitive epilepsy studied by functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy, *Epilepsia* 1999, 40(S4), 3-7.

Ciumas C, Wahlin TB, Jucaite A, Lindstrom P, Halldin C, Savic I, Reduced dopamine transporter binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy, *Neurology* 2008, 71(11), 788-794.

Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1981 *Epilepsia* 22(4), 489–501.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes, *Epilepsia* 1985, 26, 268-278.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes, 1989 *Epilepsia* 30(4), 389–399.

Conway BR, Spatial structure of cone inputs to color cells in alert macaque primary visual cortex (V-1), *J Neurosci* 2001, 21(8), 2768-2783.

Cossette P, Liu L, Brisebois K, Dong H, Lortie A, Vanasse M, Saint-Hilaire JM, Carmant L, Verner A, Lu WY, Wang YT, Rouleau GA, Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy, *Nat Genet* 2002, 31(2), 184–189.

Covanis A, Photosensitivity in idiopathic generalized epilepsies, *Epilepsia* 2005, 46(S9), 67-72.

da Silva Sousa P, Lin K, Garzon E, Ceiki Sakamoto A, Yacubian EM. Language- and praxis-induced jerks in patients with juvenile myoclonic epilepsy, *Epileptic Disord* 2005a, 7, 115-121.

da Silva Sousa P, Lin K, Garzon E, Sakamoto AC, Yacubian EM, Self-perception of factors that precipitate or inhibit seizures in juvenile myoclonic epilepsy, *Seizure* 2005b 14, 340-346.

Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Smith SM, Beckmann CF, Consistent resting-state networks across healthy subjects, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(37), 13848-13853.

De Graaf AS, Van Wyk Kotze TJ, Claassen DA, Photoparoxysmal responses in the electroencephalograms of some ethnic groups of the Cape Peninsula, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1980, 50(3-4), 275-281.

de Kovel CG, Pinto D, Tauer U, Lorenz S, Muhle H, Leu C, Neubauer BA, Hempelmann A, Callenbach PM, Scheffer IE, Berkovic SF, Rudolf G, Striano P, Siren A, Baykan B, Sander T, Lindhout D, Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Stephani U, Koeleman BP, Whole-genome linkage scan for epilepsy-related photosensitivity: a mega-analysis, *Epilepsy Res* 2010, 89(2-3), 286-294.

De Luca M, Beckmann CF, De Stefano N, Matthews PM, Smith SM, fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain, *Neuroimage* 2006, 29(4), 1359-1367.

- de Nijs L, Wolkoff N, Grisar T, Lakaye B, Juvenile myoclonic epilepsy as a possible neurodevelopmental disease: role of EFHC1 or Myoclonin1, *Epilepsy Behav* 2013, 28(S1), S58-60.
- De Tiège X, Laufs H, Boyd SG, Harkness W, Allen PJ, Clark CA, Connelly A, Cross JH EEG-fMRI in children with pharmacoresistant focal epilepsy, *Epilepsia* 2007, 48(2), 385-389.
- deBittencourt PRM, Photosensitivity: the magnitude of the problem, *Epilepsia* 2004, 45(S1), 1–5.
- Delgado-Escueta AV, Enrile-Bacsal F, Juvenile myoclonic epilepsy of Janz, *Neurology* 1984, 34(3), 285–294.
- Delgado-Escueta AV, Greenberg D, Weissbecker K, Liu A, Treiman L, Sparkes R, Park MS, Barbetti A, Terasaki PI, Gene mapping in the idiopathic generalized epilepsies: juvenile myoclonic epilepsy, childhood absence epilepsy, epilepsy with grand mal seizures, and early childhood myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 1990, 31(S3), S19-29.
- Delgado-Escueta AV, Koeleman BP, Bailey JN, Medina MT, Durón RM, The quest for juvenile myoclonic epilepsy genes, *Epilepsy Behav* 2013, 28(S1), S52-57.
- Dibbens LM, Feng HJ, Richards MC, Harkin LA, Hodgson BL, Scott D, Jenkins M, Petrou S, Sutherland GR, Scheffer IE, Berkovic SF, Macdonald RL, Mulley JC, GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies, *Hum Mol Genet* 2004, 13(13), 1315–1319.
- Doose H, Waltz S, Photosensitivity-genetics and clinical significance, *Neuropediatrics* 1993, 24(5), 249–255.
- Eeg-Olofsson O, Petersen I, Sellden U, The development of the electroencephalogram in normal children from the age of 1 through 15 years: paroxysmal activity, *Neuropaediatrie* 1971 (2), 375–404.
- Engel J Jr, International League Against Epilepsy (ILAE), A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology, *Epilepsia* 2001, 42(6), 796-803.
- Engel J Jr., Report of the ILAE Classification Core Group, *Epilepsia* 2006, 47(9), 1558-1568.

Escayg A, De Waard M, Lee DD, Bichet D, Wolf P, Mayer T, Johnston J, Baloh R, Sander T, Meisler MH, Coding and noncoding variation of the human calcium-channel beta4-subunit gene CACNB4 in patients with idiopathic generalized epilepsy and episodic ataxia, *Am J Hum Genet* 2000, 66(5), 1531–1539.

Fisher RS, Webber WR, Lesser RP, Arroyo S, Uematsu S, High-frequency EEG activity at the start of seizures, *J Clin Neurophysiol* 1992, 9(3), 441-448.

Fisher RS, Van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr, Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE), 2005a *Epilepsia* 46(4), 470-472.

Fisher RS, Harding G, Erba G, Barkley GL, Wilkins A. Photic- and pattern-induced seizures: a review for the Epilepsy Foundation of America Working Group, *Epilepsia* 2005b, 46(9), 1426-1441.

Flink R, Pedersen B, Guekht AB, Malmgren K, Michelucci R, Neville B, Pinto F, Stephani U, Ozkara C; Commission of European Affairs of the International League Against Epilepsy: Subcommittee on European Guidelines, Guidelines for the use of EEG methodology in the diagnosis of epilepsy. International League Against Epilepsy: commission report, *Acta Neurol Scand* 2002, 106(1), 1-7.

Fox MD, Raichle ME, Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging, 2007 *Nat Rev Neurosci* 8(9), 700-711.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RS. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets, *J Cereb Blood Flow Metab* 1993, 13(1), 5-14.

Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SC, Frackowiak RS, Turner R, Analysis of fMRI time-series revisited, *Neuroimage* 1995, 2(1), 45-53.

Gardiner M, Genetics of idiopathic generalized epilepsies, *Epilepsia* 2005, 46 (S9), 15-20.

Gastaut H, Roger J, Gastaut Y. Les Formes expérimentales de l'épilepsie humaine: L'épilepsie induite par la stimulation lumineuse intermittente rythmée ou épilepsie photogénique, *Rev Neurol (Paris)* 1948, 80, 161.

Gastaut H, Regis H, Bostem F, Beaussart M, [Electroencephalographical study of 35 subjects who had suffered seizures during a televised spectacle], *Rev Neurol (Paris)* 1960, 102, 533-534.

- Gastaut H, Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures, *Epilepsia* 1970, 11(1), 102-113.
- Genton P, Gelisse P, Thomas P, Juvenile myoclonic epilepsy today: current definitions and limits, in: Schmitz B, Sander T (eds), *Juvenile myoclonic epilepsy: the Janz syndrome*, pp 11-32, 2000 Petersfield: Wrightson Biomedical Publishing.
- Gotman J, Grova C, Bagshaw A, Kobayashi E, Aghakhani Y, Dubeau F. Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005, 102(42), 15236-15240.
- Gotman J, Epileptic networks studied with EEG-fMRI, *Epilepsia* 2008, 49 (S3), 42-51.
- Gowers, WR, *Epilepsy and other chronic convulsive diseases: their causes, symptoms and treatment*, 1885 William Wood and Company, New York.
- Gregory RP, Oates T, Merry RTG, Electroencephalogram epileptiform abnormalities and candidates for aircrew training, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993, 86(1), 75–77.
- Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V, Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, 100(1), 253-258.
- Groppa S, Siebner HR, Kurth C, Stephani U, Siniatchkin M, Abnormal response of motor cortex to photic stimulation in idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsia* 2008, 49(12), 2022-2029.
- Groppa S, Moeller F, Siebner H, Wolff S, Riedel C, Deuschl G, Stephani U, Siniatchkin M, White matter microstructural changes of thalamocortical networks in photosensitivity and idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsia* 2012, 53(4), 668-676.
- Grova C, Daunizeau J, Kobayashi E, Bagshaw AP, Lina JM, Dubeau F, Gotman J, Concordance between distributed EEG source localization and simultaneous EEG-fMRI studies of epileptic spikes, *Neuroimage* 2008, 39(2), 755-774.
- Grunewald RA, Panayiotopoulos CP, Juvenile myoclonic epilepsy. A review, *Arch Neurol* 1993, 50(6), 594–598.
- Guerrini R, Genton P, Epileptic syndromes and visually induced seizures, *Epilepsia* 2004, 45(S1), 14-18.

- Hamandi K, Salek-Haddadi A, Laufs H, Liston A, Friston K, Fish DR, Duncan JS, Lemieux L, EEG-fMRI of idiopathic and secondarily generalized epilepsies, *Neuroimage* 2006, 31(4), 1700-1710.
- Harding GF, Jeavons PM, Edson AS, Video material and epilepsy, *Epilepsia* 1994, 35(6), 1208-1216.
- Harding GF, Edson A, Jeavons PM, Persistence of photosensitivity, *Epilepsia* 1997, 38(6), 663-669.
- Harding GFA, TV can be bad for your health, *Nat Med* 1998, 4(3), 265-267.
- Harding GFA, Fylan F, Two visual mechanisms of photosensitivity, *Epilepsia* 1999, 40(10), 1446-1451.
- Harding GF, Harding PF, Televised material and photosensitive epilepsy, *Epilepsia* 1999, 40 (S4), 65-69.
- Harding G, Wilkins AJ, Erba G, Barkley GL, Fisher RS. Photic- and pattern-induced seizures: expert consensus of the Epilepsy Foundation of America Working Group, *Epilepsia* 2005, 46(9), 1423-1425.
- Hill RA, Chiappa KH, Huang-Hellinger F, Jenkins BG, Hemodynamic and metabolic aspects of photosensitive epilepsy revealed by functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy, *Epilepsia* 1999, 40(7), 912-920.
- Independent Television Commission (ITC). Guidance note; use of flashing images or repetitive patterns, London: ITC, 1994.
- Inoue Y, Fukao K, Araki T, Yamamoto S, Kubota H, Watanabe Y, Photosensitive and nonphotosensitive electronic screen game-induced seizures. *Epilepsia* 1999, 40 (S4), 8-16.
- Ishida S, Yamashita Y, Matsuishi T, et al. Photosensitive seizures provoked while viewing "Pocket Monsters," a made-for-television animation program in Japan, *Epilepsia* 1998 (39), 1340-1344.
- Ives JR, Warach S, Schmitt F, Edelman RR, Schomer DL, Monitoring the patient's EEG during echo planar MRI, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993, 87(6), 417-420.
- Jabbari B, Russo MB, Russo ML, Electroencephalogram of asymptomatic adult subjects, *Clin Neurophysiol* 2000, 111(1), 102-105.

- Jaffard M, Longcamp M, Velay JL, Anton JL, Roth M, Nazarian B, Boulinguez P, Proactive inhibitory control of movement assessed by event-related fMRI, *Neuroimage* 2008, 42(3), 1196-1206.
- Jain S, Tripathi M, Srivastava AK, Narula A, Phenotypic analysis of juvenile myoclonic epilepsy in Indian families, *Acta Neurol Scand* 2003, 107(5), 356–362.
- Jallon P, Epidemiology of epilepsies. In: Panayiotopoulos CP, ed. Vol 1: A practical guide to childhood epilepsies, Oxford: Medica, 2006, pp 17–20.
- Jamora D, Lim SH, Pan A, Tan L, Tan EK, Valproate-induced Parkinsonism in epilepsy patients, *Mov Disord* 2007, 22(1), 130-133.
- Janz D, Christian W, Impulsiv Petit Mal, *Dtsch Z Nervenheilk* 1957, 176, 346-386.
- Jayakar P, Chiappa KH, Clinical correlations of photoparoxysmal responses, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990, 75(3), 251–254.
- Jeavons PM, Barton ME, Bishop A, Seizures and hand-held space invaders, *Lancet* 1981, 2(8249), 758.
- Joel D, Weiner I, The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum, *Neuroscience* 2000, 96(3), 451-474.
- Kalitzin S, Parra J, Velis DN, Lopes da Silva FH, Enhancement of phase clustering in the EEG/MEG gamma frequency band anticipates transitions to paroxysmal epileptiform activity in epileptic patients with known visual sensitivity, *IEEE Trans Biomed Eng* 2002, 49(11), 1279-1286.
- Kandel ER, Schwarz JH, Jessell TM, Principles of Neural Science, 4th Edition, 2000 McGraw Hill Professional.
- Kanouchi T, Yokota T, Kamata T, Ishii K, Senda M, Central pathway of photic reflex myoclonus, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997, 62(4), 414-417.
- Kapoor A, Satishchandra P, Ratnapriya R, Reddy R, Kadandale J, Shankar SK, Anand A, An idiopathic epilepsy syndrome linked to 3q13.3-q21 and missense mutations in the extracellular calcium sensing receptor gene, *Ann Neurol* 2008, 64(2) 158–167.
- Kasteleijn-Nolst Trenité DGA, Binnie CD, Meinardi H. Photosensitive patients: symptoms and signs during intermittent photic stimulation and their relation to seizures in daily life. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987, 50(11), 1546–1549.

- Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Binnie CD, Harding GF, Wilkins A, Photic stimulation: standardization of screening methods, *Epilepsia* 1999, 40(S4), 75-79.
- Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Guerrini R, Binnie CD, Genton P, Visual sensitivity and epilepsy: a proposed terminology and classification for clinical and EEG phenomenology, *Epilepsia* 2001, 42(5), 692-701.
- Kasteleijn-Nolst Trenité D, Rubboli G, Hirsch E, Martins da Silva A, Seri S, Wilkins A, Parra J, Covanis A, Elia M, Capovilla G, Stephani U, Harding G, Methodology of photic stimulation revisited: updated European algorithm for visual stimulation in the EEG laboratory, *Epilepsia* 2012, 53(1), 16-24.
- Keller SS, Ahrens T, Mohammadi S, Möddel G, Kugel H, Ringelstein EB, Deppe M, Microstructural and volumetric abnormalities of the putamen in juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 2011, 52(9):1715-1724.
- Kim JH, Lee JK, Koh SB, Lee SA, Lee JM, Kim SI, Kang JK, Regional grey matter abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy: a voxel-based morphometry study, *Neuroimage* 2007, 37(4), 1132-1137.
- Kim JH, Suh SI, Park SY, Seo WK, Koh I, Koh SB, Seol HY, Microstructural white matter abnormality and frontal cognitive dysfunctions in juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 2012, 53(8), 1371-1378.
- Koepp MJ, Richardson MP, Brooks DJ, Cunningham VJ, Duncan JS. Central benzodiazepine/gamma-aminobutyric acid A receptors in idiopathic generalized epilepsy: an [11C]flumazenil positron emission tomography study, *Epilepsia* 1997, 38, 1089-1097.
- Krakov K, Allen PJ, Symms MR, Lemieux L, Josephs O, Fish DR, EEG recording during fMRI experiments: image quality, *Hum Brain Mapp* 2000, 10(1), 10-15.
- Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R, et al, Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation, *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992, 89(12), 5675-5679.
- Labate A, Ambrosio R, Gambardella A, Stumioli M, Pucci F, Quattrone A, Usefulness of a morning routine EEG recording in patients with myoclonic epilepsy, *Epilepsy Res* 2007, 77(1), 17-21.

Landvogt C, Buchholz HG, Bernedo V, Schreckenberger M, Werhahn KJ, Alteration of dopamine D2/D3 receptor binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 2010, 51(9), 1699-1706.

Laufs H, Hamandi K, Walker MC, Scott C, Smith S, Duncan JS, Lemieux L, EEG-fMRI mapping of asymmetrical delta activity in a patient with refractory epilepsy is concordant with the epileptogenic region determined by intracranial EEG, *Magn Reson Imaging* 2006, 24(4), 367-371.

Laufs H, Duncan JS, Electroencephalography/functional MRI in human epilepsy: what it currently can and cannot do, *Curr Opin Neurol* 2007, 20(4), 417-423.

Laufs H, Richardson MP, Salek-Haddadi A, Vollmar C, Duncan JS, Gale K, Lemieux L, Löscher W, Koepp MJ, Converging PET and fMRI evidence for a common area involved in human focal epilepsies, *Neurology* 2011, 77(9), 904-910.

Laufs H, A personalized history of EEG-fMRI integration, *Neuroimage* 2012, 62(2), 1056-1067.

Lazeyras F, Blanke O, Perrig S, Zimine I, Golay X, Delavelle J, Michel CM, de Tribolet N, Villemure JG, Seeck M, EEG-triggered functional MRI in patients with pharmacoresistant epilepsy, *J Magn Reson Imaging* 2000, 12(1), 177-185.

Leijten FS, Dekker E, Spekrijse H, Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Van Emde Boas W, Light diffusion in photosensitive epilepsy, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998, 106(5), 387-391.

Leventhal AG, Rodieck RW, Dreher B, Retinal ganglion cell classes in the Old World monkey: morphology and central projections, *Science* 1981, 213(4512), 1139-1142.

Livingston S, Comments on the study of light-induced epilepsy in children, *Am J Dis Child* 1952, 83, 509.

Logothetis NK, What we can do and what we cannot do with fMRI, *Nature* 2008, 453(7197), 869-878.

Lücking CH, Creutzfeldt OD, Heinemann U, Visual evoked potentials of patients with epilepsy and of a control group, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1970, 29(6), 557-566.

Marten F, Rodrigues S, Benjamin O, Richardson MP, Terry JR, Onset of polyspike complexes in a mean-field model of human electroencephalography and its application to absence epilepsy, *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.*, 2009, 367(1891), 1145-1161.

Matsuoka H, Seizure generation mechanisms in reflex epilepsy, *Jpn J Psychiatry Neurol* 1990, 44(2), 317–320.

Mecarelli O, *Manuale Teorico Pratico di Elettroencefalografia*, 2010 Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia.

Menini C, Silva-Barrat C, The photosensitive epilepsy of the baboon. A model of generalized reflex epilepsy, *Adv Neurol.* 1998, 75, 29-47.

Merigan WH, P and M specialization in the macaque, in: Valberg A, Lee BB, eds., *From pigments to perception*, New York: Plenum Press, 1991, 127-132.

Merlis JK, Proposal for an international classification of the epilepsies, *Epilepsia* 1970, 11(1), 114-119.

Mishra AM, Ellens DJ, Schridde U, Motelow JE, Purcaro MJ, DeSalvo MN, Enev M, Sanganahalli BG, Hyder F, Blumenfeld H, Where fMRI and electrophysiology agree to disagree: corticothalamic and striatal activity patterns in the WAG/Rij rat, *J Neurosci* 2011, 31(42), 15053-15064.

Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Boor R, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M, Changes in activity of striato-thalamo-cortical network precede generalized spike wave discharges, *Neuroimage* 2008, 39(4), 1839-1849.

Moeller F, Siebner HR, Ahlgrimm N, Wolff S, Muhle H, Granert O, Boor R, Jansen O, Gotman J, Stephani U, Siniatchkin M, fMRI activation during spike and wave discharges evoked by photic stimulation, *Neuroimage* 2009, 48(4), 682-695.

Moeller F, LeVan P, Muhle H, Stephani U, Dubeau F, Siniatchkin M, Gotman J, Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI, *Epilepsia.* 2010, 51(10), 2000-2010.

Mory SB, Li LM, Guerreiro CA, Cendes F, Thalamic dysfunction in juvenile myoclonic epilepsy: a proton MRS study, *Epilepsia* 2003, 44(11), 1402-1405.

Newmark ME, Penry JK, *Photosensitivity and epilepsy: a review*, New York: Raven Press, 1979.

Noachtar S, Binnie C, Ebersole J, Mauguiere F, Sakamoto A, Westmoreland B, A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers and proposal for the

report form for the EEG findings. The International Federation of Clinical Neurophysiology, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1999, 52, 21-41.

O'Muircheartaigh J, Vollmar C, Barker GJ, Kumari V, Symms MR, Thompson P, Duncan JS, Koepp MJ, Richardson MP, Focal structural changes and cognitive dysfunction in juvenile myoclonic epilepsy, *Neurology* 2011, 76(1), 34-40.

O'Muircheartaigh J, Vollmar C, Barker GJ, Kumari V, Symms MR, Thompson P, Duncan JS, Koepp MJ, Richardson MP, Abnormal thalamocortical structural and functional connectivity in juvenile myoclonic epilepsy, *Brain* 2012, 135(Pt12), 3635-3644.

Obeid T, Daif AK, Waheed G, Yaqub B, Panayiotopoulos CP, Tahan AR, Shamena A, Photosensitive epilepsies and photoconvulsive responses in Arabs. *Epilepsia* 1991, 32(1), 77-81.

Ogawa S, Tank DW, Menon R, Ellermann JM, Kim SG, Merkle H, Ugurbil K, Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging, *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992, 89(13), 5951-5955.

Oguni H, Mukahira K, Oguni M, Uehara T, Su YH, Izumi T, Fukuyama Y, Videopolygraphic analysis of myoclonic seizures in juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 1994, 35(2), 307-316.

Ostrach LH, Crabtree JW, Campbell BG, Chow KL, Effects of bicuculline-induced epileptiform activity on development of receptive field properties in striate cortex and lateral geniculate nucleus of the rabbit, *Brain Res* 1984, 317(1), 113-123.

Panayiotopoulos CP, Obeid T, Waheed G, Absences in juvenile myoclonic epilepsy: a clinical and video-electroencephalographic study, *Ann Neurol*. 1989, 25(4), 391-397.

Panayiotopoulos CP, Obeid T, Tahan AR, Juvenile myoclonic epilepsy: a 5-year prospective study, *Epilepsia* 1994, 35(2), 285-296.

Panayiotopoulos C.P., *A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and Their Treatment*, 2010 Springer Healthcare, Revised Second Edition.

Parra J, Kalitzin SN, Iriarte J, Blanes W, Velis DN, Lopes da Silva FH, Gamma-band phase clustering and photosensitivity: is there an underlying mechanism common to photosensitive epilepsy and visual perception? *Brain* 2003, 126(Pt5), 1164-1172.

Patel MR, Blum A, Pearlman JD, Yousuf N, Ives JR, Saeteng S, Schomer DL, Edelman RR, Echo-planar functional MR imaging of epilepsy with concurrent EEG monitoring, *AJNR Am J Neuroradiol.* 1999, 20(10), 1916-1919.

Petersen I, Eeg-Olofsson O, The development of the electroencephalogram in normal children from the age of 1 through 15 years: non-paroxysmal activity, *Neuropaediatric* 1971 (2), 247–304.

Pinto D, Westland B, de Haan GJ, Rudolf G, da Silva BM, Hirsch E, Lindhout D, Trenité DG, Koeleman BP, Genome-wide linkage scan of epilepsy-related photoparoxysmal electroencephalographic response: evidence for linkage on chromosomes 7q32 and 16p13, *Hum Mol Genet* 2005, 14(1), 171-178.

Pizoli CE, Shah MN, Snyder AZ, Shimony JS, Limbrick DD, Raichle ME, Schlaggar BL, Smyth MD, Resting-state activity in development and maintenance of normal brain function, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(28), 11638-11643.

Porciatti V, Bonanni P, Fiorentini A, Guerrini R, Lack of cortical contrast gain control in human photosensitive epilepsy, *Nat Neurosci* 2000, 3(3), 259-263.

Puglia JF, Brenner RP, Soso MJ, Relationship between prolonged and self-limited photoparoxysmal responses and seizure incidence: study and review, *J Clin Neurophysiol* 1992, 9(1), 137–144.

Pulsipher DT, Seidenberg M, Guidotti L, Tuchscherer VN, Morton J, Sheth RD, Hermann B, Thalamofrontal circuitry and executive dysfunction in recent-onset juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsia* 2009, 50(5), 1210-1219.

Quirk JA, Fish DR, Smith SJ, Sander JW, Shorvon SD, Allen PJ, First seizures associated with playing electronic screen games: a community-based study in Great Britain, *Ann Neurol.* 1995, 37(6), 733-737.

Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, 98(2), 676-682.

Reilly EL, Peters JF. Relationship of some varieties of electroencephalographic photosensitivity to clinical convulsive disorders, *Neurology* 1973, 23(10), 1050–1057.

Roger J, Bureau M, Dravet C, Genton P, Tassinari CA, Wolf P (eds), *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence*, 4th Edition with video sequences, Published by John Libbey Eurotext, Montrouge, 2005.

Rubboli G, Parra J, Seri S, Takahashi T, Thomas P, EEG diagnostic procedures and special investigations in the assessment of photosensitivity, *Epilepsia* 2004, 45(S1), 35-39.

Rushton DN, "Space invader" epilepsy, *Lancet*. 1981, 1(8218), 501.

Sander JW, Shorvon SD, Epidemiology of the epilepsies, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996, 61(5), 433-443.

Santens P, Claeys I, Vonck K, Boon P, Parkinsonism due to lamotrigine, *Mov Disord* 2006, 21(12), 2269-2270.

Schomer DL, Lopes-Da Silva FH, Niedermeyer's electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields, 6th Edition, Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, 2010.

Schwartz AB, Distributed motor processing in the cerebral cortex, *Curr Opin Neurobiol* 1994, 4(6), 840-846.

Scollo-Lavizzari G, Scollo-Lavizzari GR, Sleep, sleep deprivation, photosensitivity and epilepsy, *Eur Neurol* 1974, 11(11), 1-21.

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

Simmons WK, Martin A, Spontaneous resting-state BOLD fluctuations reveal persistent domain-specific neural networks, *Soc Cogn Affect Neurosci* 2012, 7(4), 467-75.

Siniatchkin M, Moeller F, Shepherd A, Siebner H, Stephani U, Altered cortical visual processing in individuals with a spreading photoparoxysmal EEG response, *Eur J Neurosci* 2007a, 26(2), 529-536.

Siniatchkin M, Groppa S, Jerosch B, Muhle H, Kurth C, Shepherd AJ, Siebner H, Stephani U, Spreading photoparoxysmal EEG response is associated with an abnormal cortical excitability pattern, *Brain* 2007b, 130(Pt 1), 78-87.

Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM, Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL, *Neuroimage* 2004, 23(S1), S208-219.

Smith SJ, EEG in the diagnosis, classification, and management of patients with epilepsy, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005, 76 (S2), ii2-7.

Sonmez F, Atakli D, Sari H, Atay T, Arpacı B, Cognitive function in juvenile myoclonic epilepsy, *Epilepsy Behav* 2004, 5(3), 329-336.

Spencer SS, Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment, *Epilepsia* 2002, 43(3), 219-227.

Starr MS, The role of dopamine in epilepsy, *Synapse* 1996, 22(2), 159-194.

Stephani U, Tauer U, Koелеman B, Pinto D, Neubauer BA, Lindhout D, Genetics of photosensitivity (photoparoxysmal response): a review, *Epilepsia* 2004, 45 (S1), 19-23.

Strigaro G, Prandi P, Varrasi C, Monaco F, Cantello R, Defective visual inhibition in photosensitive idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsia* 2012, 53(4), 695-704.

Strigaro G, Prandi P, Varrasi C, Magistrelli L, Falletta L, Cantello R, Intermittent photic stimulation affects motor cortex excitability in photosensitive idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsy Res* 2013, 104(1-2), 78-83.

Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, et al. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy, *Nat Genet* 2004, 36(8), 842–849.

Swartz BE, Simpkins F, Halgren E, Mandelkern M, Brown C, Krisdakumtorn T, Gee M, Visual working memory in primary generalized epilepsy: an 18FDG-PET study, *Neurology* 1996, 47(5), 1203-1212.

Szaflarski JP, DiFrancesco M, Hirschauer T, Banks C, Privitera MD, Gotman J, Holland SK, Cortical and subcortical contributions to absence seizure onset examined with EEG/fMRI, *Epilepsy Behav* 2010, 18(4), 404-413.

Takada H, Aso K, Watanabe K, Okumura A, Negoro T, Ishikawa T, Epileptic seizures induced by animated cartoon, "Pocket Monster", *Epilepsia*. 1999, 40(7), 997-1002.

Takahashi T, Tsukahara Y, Kaneda S, Influence of pattern and red color on the photoconvulsive response and the photic driving, *Tohoku J Exp Med* 1981, 133(2), 129-137.

Takahashi Y, Fujiwara T, Yagi K, Seino M, Wavelength specificity of photoparoxysmal responses in idiopathic generalized epilepsy, *Epilepsia* 1995, 36(11), 1084-1088.

Takahashi Y, Fujiwara T, Yagi K, Seino M., Wavelength dependency of photoparoxysmal responses in photosensitive nonepileptic individuals, *Tohoku J Exp Med* 1997, 181, 311-319.

Takahashi Y, Fujiwara T, Yagi K, Seino M, Wavelength dependence of photoparoxysmal responses in photosensitive patients with epilepsy, *Epilepsia* 1999a, 40 (S4), 23-27.

- Takahashi T, Nakasato N, Yokoyama H, Tsukahara Y, Low-luminance visual stimuli compared with stroboscopic IPS in eliciting PPR in photosensitive patients, *Epilepsia* 1999b, 40(S4), 44-49.
- Takahashi Y, Fujiwara T, Yagi K, Seino M, Photosensitive epilepsies and pathophysiologic mechanisms of the photoparoxysmal response, *Neurology* 1999c, 53(5), 926-932.
- Takasaka Y, Takamatsu K, Nakagawara M. Anterior-posterior relationships of EEG in photosensitive subjects: coherence and crossphase- spectral analysis, *Jpn J Psychiatry Neurol* 1989, 43(4), 651–663.
- Temkin O, *The Falling Sickness: A History of Epilepsy from the Greeks to the Beginnings of Modern Neurology*, 1994 The Johns Hopkins University Press, Revised edition, Baltimore.
- Tobimatsu S, Zhang YM, Tomoda Y, Mitsudome A, Kato M, Chromatic sensitive epilepsy: a variant of photosensitive epilepsy, *Ann Neurol* 1999, 45(6), 790-793.
- Trenité DG, Binnie CD, Harding GF, Wilkins A, Covanis T, Eeg-Olofsson O, Goosens L, Henriksen O, Krämer G, Leyten F, Da Silva FH, Da Silva AM, Naquet R, Pedersen B, Ricci S, Rubboli G, Spekreijse H, Waltz S, Medical technology assessment photic stimulation--standardization of screening methods, *Neurophysiol Clin.* 1999, 29(4), 318-324.
- Trojborg W, EEG abnormalities in 5,893 jet pilot applicants registered in a 20-year period, *Clin Electroencephalogr* 1992, 23(2), 72–78.
- Tyvaert L, Hawco C, Kobayashi E, LeVan P, Dubeau F, Gotman J, Different structures involved during ictal and interictal epileptic activity in malformations of cortical development: an EEG-fMRI study, *Brain* 2008, 131(Pt 8), 2042-2060.
- Tyvaert L, Chassagnon S, Sadikot A, LeVan P, Dubeau F, Gotman J, Thalamic nuclei activity in idiopathic generalized epilepsy: an EEG-fMRI study, *Neurology* 2009, 73, 2018-2022.
- Uddin LQ, Kelly AM, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP, Functional connectivity of default mode network components: correlation, anticorrelation, and causality, *Hum Brain Mapp* 2009, 30(2), 625-637.
- van den Heuvel MP, Hulshoff Pol HE, Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity, *Eur Neuropsychopharmacol* 2010, 20(8), 519-534.

- Varela F, Lachaux JP, Rodriguez E, Martinerie J. The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat Rev Neurosci* 2001, 2(4), 229-239.
- Vercueil L, Parkinsonism and Epilepsy: Case Report and Reappraisal of an Old Question, *Epilepsy Behav* 2000, 1(2), 128-130.
- Verrotti A, Basciani F, Trotta D, Cutarella R, Salladini C, Morgese G, Chiarelli F, Photoparoxysmal responses in non-epileptic children in long-term follow-up, *Acta Neurol Scand* 2002, 105(5), 400-402.
- Vollmar C, O'Muircheartaigh J, Barker GJ, Symms MR, Thompson P, Kumari V, Duncan JS, Janz D, Richardson MP, Koepp MJ, Motor system hyperconnectivity in juvenile myoclonic epilepsy: a cognitive functional magnetic resonance imaging study, *Brain* 2011, 134(Pt6), 1710-1719.
- Vollmar C, O'Muircheartaigh J, Symms MR, Barker GJ, Thompson P, Kumari V, Stretton J, Duncan JS, Richardson MP, Koepp MJ, Altered microstructural connectivity in juvenile myoclonic epilepsy: the missing link, *Neurology* 2012, 78(20), 1555-1559.
- Vulliemoz S, Lemieux L, Daunizeau J, Michel CM, Duncan JS, The combination of EEG source imaging and EEG-correlated functional MRI to map epileptic networks, *Epilepsia* 2010, 51(4), 491-505.
- Vulliemoz S, Vollmar C, Koepp MJ, Yogarajah M, O'Muircheartaigh J, Carmichael DW, Stretton J, Richardson MP, Symms MR, Duncan JS, Connectivity of the supplementary motor area in juvenile myoclonic epilepsy and frontal lobe epilepsy, *Epilepsia* 2011, 52(3), 507-514.
- Warach S, Ives JR, Schlaug G, Patel MR, Darby DG, Thangaraj V, Edelman RR, Schomer DL, EEG-triggered echo-planar functional MRI in epilepsy, *Neurology* 1996, 47(1), 89-93.
- Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J, Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans, *J Physiol* 1999, 517(Pt 2), 591-597.
- Wilkins AJ, Darby CE, Binnie CD, Neurophysiological aspects of pattern-sensitive epilepsy, *Brain* 1979, 102(1), 1-25.
- Wilkins AJ, Towards an understanding of reflex epilepsy and the absence. In: Duncan JS, Panayiotopoulos CP, eds., *Typical absences and related epileptic syndromes*. London: Churchill, 1995, 196–205.

Wilkins AJ, Bonanni P, Porciatti V, Guerrini R, Physiology of Human Photosensitivity, *Epilepsia* 2004, 45(S1), 7-13.

Woermann FG, Free SL, Koepp MJ, Sisodiya SM, Duncan JS. Abnormal cerebral structure in juvenile myoclonic epilepsy demonstrated with voxel-based analysis of MRI, *Brain* 1999, 122(Pt 11), 2101-2108.

Wolf P, Goosses R, Relation of photosensitivity to epileptic syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986, 49(12), 1386–1391.

Zeki S, The visual association cortex, *Curr Opin Neurobiol* 1993, 3(2), 155-159.

Zifkin BG, Kasteleijn-Nolst Trenité D, Reflex epilepsy and reflex seizures of the visual system: a clinical review, *Epileptic Disord* 2000, 2(3), 129-136.

RINGRAZIAMENTI

E ora arriviamo ai ringraziamenti, la parte sempre più difficile da scrivere.

Ringrazio anzitutto il Professor Ubaldo Bonuccelli, per avermi aperto le porte della Clinica Neurologica, per avermi consentito di frequentare il Reparto e dedicarmi a questo appassionante lavoro di tesi. Ringrazio il Dottor Filippo Giorgi, per avermi seguito con assiduità, entusiasmo e grande disponibilità in questo lavoro, e in generale per avermi dato tante opportunità di crescita e soddisfazione in questi ultimo anno e mezzo (o quasi) di frequentazione. E così ringrazio anche la Dottoressa Chiara Pizzanelli, per tutti i nostri (lungi) ambulatori del mercoledì, e per avermi coinvolto in molteplici e stimolanti attività, con costante supervisione e attenzione. Un grazie va al Dottor Emanuele Bartolini, primo motore di questo lavoro, e alla Dottoressa Melania Guida, secondo motore, per la sua disponibilità, precisione, e le liste di “Cose da Fare” a volte smarrite (troppo raramente, ahimè).

Grazie anche al team della Neuroradiologia: al Dottor Mirco Cosottini, alla Dott.ssa Ilaria Pesaresi e alla Dott.ssa Serena Fabbri. Nessun dato avrebbe potuto essere presentato senza il loro lavoro.

Ringrazio poi il Professor Recchia, mio tutor in questi sei anni di permanenza alla Scuola Sant’Anna, che ha sempre saputo indirizzarmi correttamente e rispondere puntualmente alle mie richieste, e il Professor Flavio Cocci, pietra miliare del settore di Medicina, per la sua costante presenza e per la sua sempre attenta supervisione.

Un grazie va a mio fratello, di cui (talvolta) sono orgoglioso (soprattutto quando mi risponde su Skype), nonostante i litigi e i nostri caratteri così diversi; alle mie zie e zii, a mio cugino Andrea, e alla nonna Adriana, che con oggi ha finito (almeno per un po’) una lunga serie di “in bocca al lupo - crepi il lupo”. Voglio ringraziare poi i nonni che ora non ho più, e che mi guardano da lassù: il nonno Alberto, e i pomeriggi interi passati a sfogliare gli atlanti, la nonna Erminia, la gioia nei suoi occhi ogni volta che mi vedeva e mi abbracciava, il nonno Ernesto, e la nostra Panda Cafè blu con tettuccio con cui ho guidato per la prima volta alla Vetricella. Perché anche se oggi non ci siete, siete stati e sarete parte di me.

Ringrazio poi gli amici che ho conosciuto alla Scuola o grazie alla Scuola, per avere reso indimenticabili i miei ultimi sei anni. Grazie a Gabri, per essere semplicemente “Gabri”, la mia “guida spirituale”, come già lo chiamavo durante il mio primo anno (e per le pizze a mezzanotte e “troiai” vari... come promesso). E poi a Nanni e Albert, con cui è da sei anni

che sopporto le Puffe (e il loro *sguardo*): Marghe & Marghi (non ricordo più chi è l'una e chi l'altra, ma tant'è: per una sarò sempre da taggare come capra o fago, mentre il principale ricordo dell'altra, suggellato da tanto di rilegatura in pelle, è la carne scaduta di Toronto... di bene in meglio, insomma), Pao (e la su.. ops, mia stanza con bagno al Toniolo, veramente un gioiello devo dire), Vale (e i giardinieri che si stendono sui tappeti, così normali no?). Un grazie a Marco e alla Fra, per i pranzi isterici del weekend, le pizze in mezz'ora che poi c'è da studià interna, e i "periodi di grande felicità" (cit.). Grazie a Davide, compagno trentino, e ai suoi salvaschermo, a Marco, il "Tegame", e alla nostra liaison (ormai) non più segreta. E poi grazie a Angie, a Mocio e Leo, Nicola, Silvia B., Alice S., Brunello e Thomas. Grazie a Ugo, con cui a Madison ho visto più il lago Mendota che il lab, a Simone, che mi ha insegnato a leggere l'EEG, e a Michele B., con cui gli EEG con bip annessi passavano tra cappuccini e muffin al cioccolato. E poi largo ai trentini, Simon e Giova, e alle nostre colazioni al Gambrinus: "perché gli amici non si scordano mai" (cit).

E ora, i ringraziamenti più importanti, che il cuore ha voluto lasciare per ultimi. Grazie a mamma e papà, perché a voi devo quello che sono, soprattutto e nonostante ciò che abbiamo passato in questi ultimi anni. Grazie papà, per quello che fai tutti i giorni e tutte le sere, perché sono proprio fiero di te. Grazie mamma, per... esserci, per *aver voluto* esserci, e per dimostrarmi ogni santo giorno che il cuore e l'amore possono dove braccia, gambe e diaframma talvolta non vogliono.

E poi, un grandissimo grazie alla mia fidanzata Alice. Perché, una sera di poco più di tre anni e mezzo fa, non ho perso tutto ciò che di più bello ho avuto nella vita dicendo semplicemente 'ti accompagno'. Grazie, perché mi hai insegnato ad amarti giorno dopo giorno, e grazie, per donarmi ogni giorno tutta te stessa.