



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**

Tesi di Laurea

Dipartimento di Medicina e Chirurgia

**“Utilizzo della neurofisiologia come strumento di
stratificazione della sinucleinopatia”**

Relatore/Relatrice

Laura Avanzino

Candidato/a

Olimpia Zilli

Correlatore/Correlatrice

Gaia Bonassi

anno accademico 2023/2024

Sommario

<u>1.INTRODUZIONE</u>	2
<u>2.PARKINSON</u>	4
<u>2.1DEFINIZIONE</u>	4
<u>2.2EPIDEMIOLOGIA</u>	5
<u>2.3 EZIOLOGIA</u>	6
<u>2.4FISIOPATOLOGIA</u>	9
<u>2.5 CLINICA</u>	10
<u>2.6 DIAGNOSI</u>	18
<u>2.7 DECORSO</u>	19
<u>2.8 TERAPIA</u>	20
<u>3. I-PD E GBA-PD</u>	23
<u>4.ATTIVITA COLINERGICA</u>	26
<u>5.LO STUDIO</u>	27
<u>5.1 RAZIONALE</u>	28
<u>5.2 OBIETTIVI</u>	29
<u>5.3 MATERIALI E METODI</u>	29
<u>5.3.1 PARTECIPANTI</u>	29
<u>5.3.2 VALUTAZIONI CLINICHE</u>	30
<u>5.3.3. VALUTAZIONI NEUROFISIOLOGICHE</u>	36
<u>5.3.4 PROTOCOLLO</u>	41
<u>6.ANALISI DATI</u>	45
<u>7.RISULTATI</u>	46
<u>8.DISCUSSIONE</u>	51
<u>9.BIBLIOGRAFIA</u>	55

1.INTRODUZIONE

Ad oggi sono in fase di sviluppo e sperimentazione numerosi farmaci che mirano a modificare il decorso delle sinucleinopatie. Tuttavia, i metodi attualmente utilizzati per le cure “personalizzate” (precision medicine approach) dei pazienti sono costosi e spesso poco accessibili (ad esempio, la scansione DaT) o invasivi (ad esempio, la puntura lombare). Inoltre, gran parte della ricerca di biomarcatori non tiene conto della variabilità delle caratteristiche fisiopatologiche dei pazienti e del coinvolgimento di disfunzioni sia corticali che sottocorticali e del loro impatto sulla progressione della malattia (Caminiti 2022, Mollenhauer 2019).

L’obiettivo di questo studio è quello di esplorare l’efficacia di due tecniche neurofisiologiche non invasive, valide, ampiamente disponibili e relativamente poco costose, che hanno il potenziale di identificare dei biomarcatori sensibili e specifici della malattia, che potrebbero essere utilizzati ad ampia scala come strumenti di screening nella pratica clinica.

Gli studi di elettroencefalografia quantitativa (qEEG) mostrano l’esistenza di patterns oscillatori specifici in vari networks corticali (Cavienss JN 2016) in pazienti con malattia di Parkinson (PD), mentre gli studi sull’integrazione sensorimotoria che utilizzano misure di Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) come l’Inibizione Afferente a Breve latenza (SAI) e l’Inibizione Afferente a Lunga latenza (LAI) intracorticale, hanno dimostrato un ridotto effetto inibitorio dello stimolo periferico sull’eccitabilità corticospinale (Pelosin 2016, Turco 2018).

La combinazione di queste tecniche può aiutare a comprendere meglio il funzionamento e le possibili alterazioni, in termini di connettività corticale e sottocorticale, dei networks corticali motorio-cognitivi, che sono alterati dalla sinucleinopatia, ed a identificare le possibili varianti fenotipiche.

In questo studio saranno reclutati soggetti con malattia di Parkinson idiopatica e portatori di mutazioni nel gene della glucocerebrosidasi (GBA-PD), che

presentano deficit motori e cognitivi più gravi rispetto al Parkinson idiopatico (iPD) (Alcalay 2015, Beavan 2015, Kozlovski 2019).

Inoltre, è noto che il sistema colinergico giochi un ruolo importante nel controllo dell'orientamento attentivo e della discriminazione agli stimoli (Pelosin 2016) e pertanto è interessante valutare tramite dei macchinari che sfruttano la neurofisiologia, se lo stato di questo possa essere usato come marcatore di severità e di traiettoria neurodegenerativa della sinucleinopatia nei pazienti affetti da PD.

L' esposizione dello studio verrà preceduta da un'introduzione su quella che è la malattia di Parkinson in tutti i suoi aspetti, ponendo una maggiore attenzione sulle differenze sinora evidenziate tra i pazienti idiopatici e quelli con gene GBA mutato e sull'importanza della funzione colinergica per poi concentrarsi sugli obiettivi e l'analisi dei dati forniti dal trial.

2.PARKINSON

2.1DEFINIZIONE

Il Parkinson è una sindrome neurodegenerativa causata dalla progressiva perdita e disfunzione dei neuroni responsabili della produzione di dopamina, un neurotrasmettitore fondamentale per il controllo volontario dei movimenti e la regolazione dell'umore.

La perdita di dopamina porta a una serie di sintomi, tra cui tremore, rigidità muscolare, lentezza nei movimenti e difficoltà nella coordinazione e nell'equilibrio.

La triade di sintomi necessaria a porre diagnosi di questa patologia comprende infatti: rigor, tremor e bradicinesia.

Il Parkinson è una sindrome complessa che può influenzare anche aspetti non motori come la cognizione, il sonno e l'umore.

Questa patologia venne descritta per la prima volta nel 1817 da James Parkinson, un medico anglosassone vissuto a cavallo tra il XVIII e XIX secolo, con il nome di “paralisi agitante”, proprio per la riduzione della motilità e il tremore dei pazienti.

Ad oggi fa parte delle sindromi rigido-acinetiche ed è la forma più comune di malattia dei gangli della base e rappresenta una sfida significativa per i pazienti, le loro famiglie e la comunità medica.

La ricerca si impegna a trovare nuove vie per comprendere meglio la malattia, identificare biomarcatori precoci e sviluppare terapie innovative per rallentare o fermare la sua progressione.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Il Parkinson è, dopo l'Alzheimer, la seconda patologia neurodegenerativa più rappresentata.

Secondo stime dell'OMS ci sono 8.5 milioni di persone affette nel mondo (WHO 2023), anche se questa cifra risulta essere sottostimata a causa della difficoltà a diagnosticare la malattia nelle sue fasi iniziali e per la mancanza di dati esaustivi in molti paesi.

L'età di esordio è mediamente intorno alla 5. – 6. decade, ma il 10-15 % dei casi, spesso legati a mutazioni genetiche, hanno un esordio giovanile prima di 30-40 anni.

La prevalenza aumenta con l'età, perciò le regioni con un'aspettativa di vita più lunga tendono ad avere una maggiore incidenza, considerando che l'invecchiamento è uno dei principali fattori di rischio di questa patologia.

In Italia si stima che oltre 300.000 persone siano affette e che la prevalenza sia in aumento a causa dell'allungamento dell'aspettativa di vita della popolazione.

Si stima che questo numero sia destinato ad aumentare nel nostro Paese e che nei prossimi 15 anni saranno 6.000 i nuovi casi ogni anno, di cui la metà colpiti in età lavorativa. (Osservatorio Malattie Rare 2023)

Inoltre, si riscontra maggiormente colpito il sesso maschile (60%) rispetto al femminile (40%).

2.3 EZIOLOGIA

L'eziologia del Parkinson è un campo di studio complesso che coinvolge una combinazione di fattori genetici, ambientali e neurochimici.

Sebbene le cause esatte della malattia non siano ancora completamente comprese, numerosi studi hanno contribuito a identificare alcuni dei principali meccanismi coinvolti nello sviluppo della patologia.

Un fattore chiave nell'eziologia è la disfunzione dei neuroni dopaminergici situati nella sostanza nera che porta a una progressiva riduzione di dopamina.

La maggior parte dei casi non è legata a mutazioni genetiche ereditarie, ma probabilmente coinvolge una combinazione complessa di fattori genetici e ambientali.

Fattori ambientali, come l'esposizione a tossine e sostanze chimiche nocive (manganese), possono aumentare il rischio di sviluppare la patologia.

Alcuni studi hanno evidenziato un'associazione tra l'esposizione a pesticidi, erbicidi, solventi industriali e metalli pesanti e un aumento dell'incidenza della malattia, ma nessuno è ancora stato accertato.

Discorso a parte può essere fatto per il MPTP. Negli anni '70 in California ci fu una piccola epidemia di Parkinson anche tra i giovani; si scoprì più tardi che il responsabile era il MPTP presente in alcune sostanze allucinogene (allora molto diffuse) mal preparate. Il MPTP è letale per le cellule nigrali, ma fu caratteristico l'assenza dei corpi di Lewy. Questo rende ragione del fatto che è

possibile avere dei parkinsonismi determinati esclusivamente su base ambientale.

Anche lo stress ossidativo e l'infiammazione nel cervello sono stati implicati come possibili meccanismi patogenetici, perché possono contribuire alla morte dei neuroni dopaminergici.

Per quanto riguarda il Parkinson su base genetica (10%), diventato sempre più evidente negli ultimi decenni, grazie a studi condotti su famiglie con storie di Parkinson ricorrente, si sono scoperti svariati geni coinvolti, che aumentano significativamente il rischio di svilupparlo.

Il primo gene trovato, da solo responsabile di una forma di Parkinson, fu il PARK-1 che codifica per l' α -sinucleina e da una forma autosomica dominante. Un altro gene, scoperto dopo, fu il PARK-2 che impedisce il corretto funzionamento del proteasoma ed è di carattere autosomico recessivo. PARK-2 è anche il gene che più frequentemente viene trovato mutato anche nelle forme sporadiche. Gli studi in questo senso si sono moltiplicati nel tempo e si è arrivati a identificare fino ad 8 geni diversi responsabili. In particolare, il PARK-8 è responsabile di circa il 70% dei Parkinson genetici nel nord Africa e, oggi, rappresenta la forma più frequente in tutto il bacino del Mediterraneo.

Anche nelle forme sporadiche però la genetica svolge un suo ruolo in senso di predisposizione. È stato dimostrato che i pazienti con Parkinson hanno meccanismi di detossificazione meno efficienti.

Tra le mutazioni genetiche associate, una delle più studiate è la mutazione nel gene LRRK2 (Leucine-Rich-Repeat-Kinase 2).

Questa rappresenta una delle cause genetiche più comuni soprattutto nelle popolazioni di origine europea.

Altre mutazioni includono quelle dei geni SNCA(alfa-sinucleina), PARK2(Parkin), PARK7(Dj-1) e PINK1 (PTEN-induced-kinase 1),GBA(gluco-cerebrosidasi).

Questi geni sono coinvolti in una varietà di processi cellulari, tra cui il controllo della risposta allo stress ossidativo, la regolazione della qualità delle proteine e il funzionamento dei mitocondri, che sono tutti processi importanti nella patogenesi.

In particolare, verrà posta l'attenzione sulla connessione tra il gene GBA (glucocerebrosidasi) e la malattia di Parkinson che è stato oggetto di numerosi studi degli ultimi anni.

Il gene GBA codifica per l'enzima glucocerebrosidasi, coinvolto nella degradazione di un lipide chiamato glucosilceramide all'interno delle cellule.

Le mutazioni nel gene GBA possono causare una forma di malattia di Gaucher, un disturbo lisosomiale caratterizzato dall'accumulo di lipidi nelle cellule.

Tuttavia, è stato coperto che le persone con mutazioni nel gene GBA hanno anche un aumentato rischio di sviluppare il Parkinson e si stima che circa il 5-10% delle persone affette abbia una mutazione GBA.

Le mutazioni GBA sembrano influenzare la patogenesi in quanto l'accumulo di alfa-sinucleina, caratteristica nel Parkinson, si verifica anche nei pazienti con malattia di Gaucher.

Studi clinici hanno dimostrato che le persone con mutazioni nel gene GBA possono avere una progressione più rapida nel Parkinson e una maggiore suscettibilità ai sintomi non motori della malattia, come la demenza e i disturbi cognitivi.

Comprendere meglio il ruolo specifico del gene GBA nel Parkinson è essenziale per sviluppare terapie mirate che possano rallentare o arrestare la progressione della malattia, ma su questo argomento ci sarà un capitolo dedicato più avanti.

2.4 FISIOPATOLOGIA

La Malattia di Parkinson è una patologia neurodegenerativa del sistema extrapiramidale a decorso cronico progressivo.

Il sistema extrapiramidale ha molta rilevanza in particolare nei processi dell'inizio del movimento e nella regolazione del tono muscolare, oltre che nel controllo del movimento stesso, affinché questo non venga alterato da movimenti involontari parassiti.

Le sindromi che colpiscono il sistema extra piramidale e che alterano l'equilibrio funzionale tra la via diretta eccitatoria e indiretta inibitoria sono caratterizzate rispettivamente da una riduzione della motilità (sindromi rigido-acinetiche) e dalla comparsa di movimenti involontari patologici (sindromi ipercinetiche).

Il Parkinson è dovuto alla degenerazione dei neuroni dopaminergici (il morbo emerge con il 90% della degenerazione del sistema dopaminergico) che determina inattività della via diretta ed iperattività di quella indiretta e quindi assenza di movimento.

Oggi sappiamo che la patogenesi del Parkinson è da ricercarsi nella neurodegenerazione della sostanza nera mesencefalica visibile sia a livello macroscopico che a livello microscopico.

Il dato macroscopico era noto anche ai tempi dello stesso Parkinson; infatti, la sezione di encefali mostrava una netta riduzione di quella che avrebbe dovuto essere la sostanza nera. Il dato microscopico è sicuramente più recente ed evidenzia quello già visibile in macroscopia: abbiamo una perdita cellulare e la formazione di inclusioni intracitoplasmatiche (dette corpi di Lewy) che sono degli accumuli di α -sinucleina e rappresentano dei marcatori abbastanza specifici di malattia che possono essere presenti anche in altre malattie (come l'Alzheimer) ma di certo la loro assenza fa escludere la diagnosi di Parkinson.

Il corpo cellulare normalmente degrada le proteine, come ad esempio l'alfa-sinucleina, attraverso il sistema dell'ubiquitina-proteasoma (sono legate 4 o

più ubiquitine alla proteina, che quindi, grazie ad appositi trasportatori quali ad esempio p47, è portata al proteasoma, che la riduce in peptidi).

Nella malattia, l'alfa sinucleina è alterata ed aggregata a conformazione beta (misfolding) sottoforma di corpi di Lewy, e questo rende impossibile la sua degradazione via proteasoma che porterà ad un'apoptosi autofagica.

La malattia non riguarda solo la sostanza nera mesencefalica ma ha una distribuzione in buona parte dell'encefalo. Gli studi condotti dai fratelli Brack hanno portato ad ipotizzare che il processo fisiopatologico della malattia cominci numerosi anni prima della comparsa dei sintomi (anche 20anni prima) e che interessi tronco encefalico, bulbo, mesencefalo, bulbo olfattorio e aree corticali. Questo suggerisce (e in parte spiega) perché possono esserci sintomi che compaiono anni prima della manifestazione vera e propria del Parkinson come, ad esempio, l'alterazione dell'olfatto o la stipsi.

Oltre alla degenerazione dei neuroni dopaminergici si è vista anche una degenerazione dei neuroni aminergici tronco-encefalici e colinergici del nucleo di Meynert.

2.5 CLINICA

La triade classica del Parkinson vede come sintomi principali: rigor, tremor e bradicinesia.

Si tende a differenziare i pazienti in base alla prevalenza rigido-acinetica piuttosto che tremorigena.

L' esordio della malattia è generalmente insidioso. Il primo sintomo a manifestarsi è, nella maggioranza dei casi, il tremore, che può essere accompagnato da impaccio motorio, sensazione di irrigidimento, iposmia e sintomi aspecifici come dolori, faticabilità, turbe dell'andatura, depressione del tono dell'umore, modificazioni del timbro vocale e della scrittura anche per mesi prima dello sviluppo compiuto della patologia.

La sintomatologia all'esordio è spesso unilaterale anche se, col progredire della malattia, compaiono segni a livello controlaterale ed assiale, talora inizialmente evidenziabili solo con l'esame neurologico prima di essere percepiti dal paziente.

La triade di sintomi fondamentali della patologia è costituita da: tremore a riposo, rigidità e acinesia. A questi possono poi associarsi alterazioni della postura e dell'equilibrio, deficit autonomici, cognitivi e del sonno (Abbruzzese, 2005).

Tremore: si definisce "tremore" l'oscillazione ritmica di un segmento corporeo attorno al proprio asse. Il tremore extrapiramidale, tipico della malattia, si manifesta tipicamente a riposo, quando l'arto non è utilizzato, ed è causato dalla contrazione ritmica di tipo alternante di muscoli antagonisti con una frequenza di 4-6 scosse al secondo (Hz). Scompare o si attenua durante l'esecuzione di movimenti volontari finalizzati. È influenzato da fatica, emozioni, calcolo mentale, che ne aumentano l'intensità, mentre si riduce in condizioni di tranquillità. Tipicamente questo fenomeno non è mai presente durante il sonno.

Si localizza in preferenza agli arti ed in particolare ai segmenti distali dell'arto superiore: sono tipici i movimenti di abduzione-adduzione del pollice e di flesso-estensione delle altre dita che simulano il gesto di "contare monete" o "confezionare pillole".

Le mani possono presentare movimenti di flesso-estensione e pronosupinazione. L'arto inferiore ed il capo sono meno frequentemente coinvolti, specie in fase iniziale, ma possono essere colpite le labbra e la mandibola.

Si pensa che il meccanismo fisiopatologico coinvolga circuiti riflessi iperfunzionanti e un generatore centrale talamico ad attività ritmica (Loeb e Favale, 2005).

Acinesia e bradicinesia: Sono termini riferiti rispettivamente alla globale riduzione della motilità (volontaria, automatica, associata e riflessa), ed alla lentezza e faticabilità con cui sono eseguiti i movimenti volontari.

I movimenti associati ed automatici, di norma eseguiti senza intervento della volontà, sono compromessi. Di conseguenza, perdono la loro automaticità e richiedono una maggior concentrazione e l'intervento della volontà per essere eseguiti.

I movimenti volontari sono quantitativamente ridotti e alterati; i movimenti ripetitivi di tipo rapido alternato sono eseguiti lentamente con graduale riduzione di ampiezza e completezza.

Il sintomo si evidenzia facendo compiere al soggetto movimenti di fine manualità che risultano più impacciati, meno ampi e più rapidamente esauribili: per cui il movimento con la ripetizione diventa quasi impercettibile.

La base fisiopatologica è l'iperattività della via indiretta dal putamen al pallido esterno ed al nucleo subtalamico di Lewys che causa un deficit facilitatorio talamo-corticale dell'area supplementare motoria con inappropriate attivazioni delle aree motorie primarie.

Rigidità: Consiste in un aumento del tono muscolare apprezzato dall'esaminatore come una resistenza continua al movimento passivo ed avvertito dal paziente come un irrigidimento muscolare.

Questa ipertonia è di tipo extrapiramidale, e viene definita rigidità "plastica", in quanto ricorda la flessibilità della cera o la sensazione che si sperimenta nel piegare un tubo di piombo, e si distingue dall' ipertonia "elastica" tipica di una sindrome piramidale (spasticità).

A differenza della spasticità, che si localizza alla muscolatura antigravitaria, la rigidità colpisce tutti i gruppi muscolari anche se inizialmente predilige la muscolatura assiale, cervicale e prossimale degli arti; successivamente coinvolge le estremità distali e tende a prevalere nei gruppi muscolari flessori

ed adduttori, determinando l'atteggiamento tipico del parkinsoniano definito "camptocormia". Tale atteggiamento comprende una lieve flessione del capo e del tronco, l'anteposizione delle spalle, l'adduzione delle braccia al torace, avambracci in leggera flessione ed intra rotazione, l'adduzione e la lieve flessione delle cosce, una leggera flessione delle gambe e un iniziale varismo dei piedi.

Nel soggetto che presenta rigidità, alla mobilizzazione passiva si evidenziano piccoli ritmici cedimenti del tono muscolare che creano il fenomeno della "ruota dentata" o "troclea".

Anche la rigidità, come il tremore, può essere influenzata da numerosi fattori: è aumentata dalle emozioni, dal freddo, dalla fatica e dallo sforzo, mentre si attenua durante il sonno.

È un segno clinico pressoché costante e può costituire l'unico sintomo della malattia per diverso tempo.

Alterazioni posturali: come già detto, il tipico atteggiamento posturale del paziente affetto da malattia di Parkinson è la "camptocormia", dovuta al prevalere dell'ipertonìa dei gruppi muscolari flessori ed adduttori. Questa può, col tempo, associarsi ad alterazioni scheletriche (cifo-scoliosi). Inoltre, la prevalenza unilaterale dei sintomi, può provocare lo sviluppo di alterazioni posturali sul piano frontale, quali, per esempio, un'inclinazione laterale della colonna. Oltre alla colonna vertebrale, vengono frequentemente colpite da deformazioni posturali anche le mani (flessione delle articolazioni metacarpo-falangee con flessione di quelle interfalangee) ed i piedi (cosiddetto "piede striatale" con alluce in estensione ed altre dita "a martello").

Disturbi dell'equilibrio: Si presentano più tardivamente nel corso della malattia. Sono dovuti a una riduzione dei riflessi di raddrizzamento, per cui il paziente è spesso soggetto ad antero-retropulsione, non essendo in grado di correggere

eventuali perturbazioni del baricentro. L'instabilità posturale che ne deriva è un fattore di rischio per le cadute a terra. Si ricerca verificando la capacità di correggere una spinta all'indietro.

Alterazioni nella deambulazione: Il cammino del soggetto parkinsoniano risulta compromesso a vari livelli. La velocità di esecuzione del passo e la lunghezza dello stesso sono ridotte, portando a una deambulazione lenta, a piccoli passi, con i piedi strisciati al suolo. L'associazione della rigidità, dell'atteggiamento camptocormico e della riduzione dei movimenti pendolari degli arti superiori, crea un'instabilità della marcia che spesso diventa causa di cadute.

In alcuni casi possono verificarsi episodi di blocco motorio improvviso ('acinesia paradossa' o 'freezing del cammino') in cui il paziente sente i piedi come incollati al pavimento. Questo fenomeno si può verificare all'avvio della deambulazione, nei cambi di direzione e nei passaggi attraverso spazi stretti.

In fase avanzata di malattia, si può osservare anche una costante tendenza all'anteropulsione che, favorita dall'atteggiamento spontaneo in flessione del tronco, si evidenzia con una progressiva accelerazione dell'andatura (fenomeno della "festinazione") come se il paziente "inseguisse il proprio centro di gravità".

Accanto ai sintomi primari, legati a disturbi motori principali si possono sviluppare un'altra serie di sintomi secondari a carico dei vari apparati:

Disturbi della fonazione e del linguaggio: sono determinati dal coinvolgimento della muscolatura respiratoria e dalla riduzione del flusso espiratorio, o dalla compromissione dei circuiti extrapiramidali che altera la stessa organizzazione dinamica dei muscoli che coordinano l'attività del linguaggio.

Essi possono manifestarsi con una riduzione del tono di voce, con la difficoltà ad articolare le parole, con l'accelerazione delle parole alla fine delle frasi, con la ripetizione involontaria di parole o sillabe o con la difficoltà ad iniziare a parlare.

L'aria espirata raggiunge la glottide in maniera inefficiente e come risultato si ha una debole vibrazione delle corde vocali, con conseguente riduzione del tono e variazione del timbro di voce. Oppure, a causa della rigidità e della lentezza dei movimenti dei muscoli facciali e della bocca, può accadere che si presenti una difficoltà a pronunciare ed articolare le parole (disartria). Inizialmente il disturbo della parola è caratterizzato da parola flebile e monotona, senza inflessioni o accentuazioni della voce, ma il cambiamento può essere così lieve che il paziente e i familiari non ne notano la differenza. La difficoltà ad articolare le parole può essere lieve e intermittente oppure più grave, così da limitare la comunicazione. Inoltre, variazioni del grado di severità possono verificarsi in concomitanza alle fluttuazioni motorie, essere influenzate dalla presenza di eccessiva saliva o semplicemente dalla stanchezza fisica. In particolari casi però questi disturbi possono arrivare a limitare la quotidianità del paziente costringendolo a rinunciare ad una vita sociale piena.

Tardivamente la deglutizione può essere compromessa; si tratta di un movimento automatico piuttosto complesso dove i muscoli della gola e della lingua devono muoversi in modo coordinato per spingere il cibo dalla bocca all'esofago e quando questa coordinazione non è perfetta il paziente può avere la sensazione che il cibo si fermi in gola.

Alterazioni nella scrittura: la scrittura è caratterizzata da caratteri grafici irregolari e ineguali a causa del tremore. Questi diventano sempre più piccoli fino a determinare la cosiddetta "micrografia del parkinsoniano".

Ipomimia - amimia: L'ipo-amimia è spesso un altro segno e consiste nella perdita della normale mimica facciale: i tratti fisionomici sono fissi, avendo perduto la capacità espressiva di emozioni e sentimenti.

Accanto ai sintomi sopra descritti la malattia di Parkinson può sviluppare deficit non specificamente motori:

Disturbi di sensibilità: La sensibilità obiettiva non è compromessa, ma il paziente lamenta spesso disturbi sensitivi soggettivi quali parestesie e disestesie, dolori e crampi muscolari indefiniti e difficilmente localizzabili.

Scialorrea: Il soggetto può presentare un'aumentata produzione di saliva, segno frequente nelle fasi avanzate e non di rado è associata a disfagia di grado lieve, dovuto ad una aumentata stimolazione del nervo vagale.

Disfunzioni vegetative e degli organi interni: Spesso si nota un'ipersecrezione sebacea. La pelle si presenta lucida e talvolta arrossata, particolarmente sulla fronte e sul cuoio capelluto. Il fenomeno può essere accompagnato da prurito.

Si verifica un aumento della frequenza minzionale, sia perché la vescica non si svuota completamente ogni volta, sia perché viene avvertito lo stimolo ad urinare anche quando la vescica non è ancora piena. Possono inoltre stabilirsi difficoltà quali ritardo nell' iniziare la minzione, lentezza nello svuotare la vescica o anche esagerato riempimento della vescica che può portare ad una emissione involontaria di urine.

La funzionalità intestinale può risultare rallentata, si possono manifestare gonfiore e distensione addominale e i farmaci utilizzati per il trattamento della malattia rischiano di aggravare questo problema.

Si può manifestare ipotensione ortostatica, con vertigini e fenomeni pre-sincopali.

Disturbi del sonno: comprendono sia parasonnie (sogni vividi, incubi) sia disturbi motori (mioclono, sindrome delle gambe senza riposo, movimenti periodici) (Trenkwalder, 1998).

Alterazioni cognitive: Turbe dell'affettività quali stati disforici, crisi d'ansia, stati depressivi, astenia, abulia e inerzia si riscontrano molto spesso. Un umore depresso può essere in parte legato alla reazione negativa conseguente ad una diagnosi di malattia cronica, ma più spesso è risultato della riduzione di mediatori quali noradrenalina e serotonina.

È necessario tener conto che la depressione può essere alternativamente sovra- o sottostimata in quanto il medesimo aspetto fisico di questi pazienti può mimare la depressione. Infatti, un paziente con scarsa mimica facciale, ipofonia, rallentamento psicomotorio e postura ante flessa, può essere considerato depresso quando invece non lo è.

Alterazioni cognitive tali da caratterizzare un vero e proprio quadro di demenza sono state descritte da diversi studi epidemiologici (Brown e Marsden, 1984), ma si ritiene che, più che di un'unica forma di demenza, i parkinsoniani soffrano di deficit intellettuali dovuti a differenti sedi lesionali ed alla mancanza di specifici neurotrasmettitori. Sono stati osservati specifici deficit nelle aree del linguaggio, della memoria e dell'orientamento spaziale. Occorre tuttavia ricordare che una corretta valutazione della capacità mentale nei parkinsoniani è resa difficile dall'esistenza di numerosi fattori di variabilità legati alla compromissione motoria, alla bradifrenia, agli effetti della terapia, all'isolamento socio-ambientale.

2.6 DIAGNOSI

La diagnosi di Malattia di Parkinson è essenzialmente clinica. Può essere formulata se sono presenti i sintomi cardine (bradicinesia, rigidità, tremore a riposo), a cui va comunque associata la verifica della responsività al trattamento con levodopa.

La diagnostica strumentale (TC e RMI) non evidenzia alterazioni specifiche, ma è fondamentale per escludere lesioni in grado di causare un parkinsonismo secondario.

Nei casi dubbi, può essere utile il ricorso alla SPECT, esame di imaging che misura i livelli di trasportatore della dopamina nelle terminazioni presinaptiche del corpo striato.

La diagnosi differenziale deve essere posta nei confronti di altre patologie del sistema extrapiramidale, come il tremore essenziale, parkinsonismi atipici (degenerazione cortico-basale, paralisi sopranucleare progressiva, atrofia multisistemica, demenza a corpi di Lewy), e i parkinsonismi sintomatici: iatrogeno (secondario a trattamento con farmaci neurolettici), post-encefalitico, vascolare, da tossici (per sostanze industriali o manganese), da idrocefalo, tumorale e post-traumatico.

La mancata risposta al trattamento dopaminergico, il precoce riscontro di turbe della sfera cognitiva, una grave compromissione autonoma, alterazioni posturali o cadute, deficit della motilità oculare e l'associazione di segni cerebellari o piramidali orientano verso patologie diverse; mentre un esordio unilaterale, il riscontro di tremore a riposo, il decorso lentamente progressivo e la risposta al trattamento con levodopa, depongono a favore della diagnosi di Malattia di Parkinson Idiopatica.

2.7 DECORSO

L'esordio della patologia è generalmente unilaterale, diventa poi bilaterale e progressivamente invalidante. Inizialmente il paziente presenta impaccio

motorio, ma rimane autosufficiente e autonomo. Negli stadi avanzati di malattia, la sintomatologia diventa ingravescente, fino alla perdita dell'autonomia.

Il decorso è variabile: può essere lento e inesorabilmente progressivo, lento e benigno o, al contrario, molto rapido e velocemente invalidante.

L'evoluzione naturale della malattia è variabile e se ne possono distinguere due forme:

1) Forma ipercinetica: caratterizzata da età di insorgenza precoce, evoluzione clinica lenta e meno invalidante, minore incidenza di demenza e clinicamente dominata da tremore spesso unilaterale;

2) Forma acinetico-ipertonica: più rara, ad evoluzione rapida e più invalidante, con precoce instaurazione di turbe posturali e dell'andatura, clinicamente dominata da grave rigidità ed acinesia.

Per definire lo stadio clinico del paziente, si utilizza la scala di Hoehn e Yahr:

- Stadio 1: malattia unilaterale.
- Stadio 2: malattia bilaterale senza coinvolgimento dell'equilibrio.
- Stadio 3: malattia da lieve a moderata, qualche instabilità posturale; ancora indipendente.
- Stadio 4: malattia conclamata ancora in grado di deambulare autonomamente
- Stadio 5: paziente costretto a letto o in sedia a rotelle.

In epoca precedente l'avvento della terapia con levodopa, la storia naturale della malattia era caratterizzata da una durata media inferiore ai 10 anni con mortalità tre volte superiore a quella della popolazione normale, specie per complicanze vascolari o broncopneumoniche. La somministrazione di levodopa ha notevolmente prolungato l'aspettativa di vita, rendendola solo lievemente inferiore a quella dei soggetti di controllo di pari età (Morgante et al., 2000).

2.8 TERAPIA

Attualmente, non è stata identificata una causa responsabile della malattia di Parkinson, ciò ne rende impossibile un trattamento causale. La terapia è, perciò, sintomatica, volta, quindi, ad agire sui sintomi della malattia, compensando il deficit dopaminergico che ne è alla base.

Sono disponibili tre differenti approcci terapeutici per ridurre i sintomi della patologia: farmacologico, chirurgico, fisioterapico. Essi risultano sufficientemente efficaci nelle prime fasi di malattia.

In generale le scelte terapeutiche devono, comunque, essere adattate al singolo individuo in rapporto alle sue specifiche condizioni ed aspettative.

Trattamento farmacologico:

Il farmaco più affidabile ed efficace è senza dubbio la levodopa, precursore naturale della dopamina in cui è convertita dall'azione della dopa-decarbossilasi.

Viene attualmente somministrata in associazione ad inibitori periferici dell'enzima decarbossilasi (carbidopa o benserazide) per garantire l'effetto a livello del sistema nervoso centrale ed allo stesso tempo ridurre gli effetti collaterali gastroenterici (nausea e vomito) e cardiocircolatori (turbe del ritmo ed ipotensione ortostatica).

La levodopa induce nella grande maggioranza dei pazienti un rapido e significativo miglioramento (di oltre il 50%) della sintomatologia, in particolare, della rigidità e dell'acinesia. Assai meno influisce sul tremore e sul freezing del cammino. Riguardo a quest'ultimo i benefici sono moderati quando la sua insorgenza avviene nelle fasi "off" motorie, mentre non rispondono al trattamento farmacologico le fasi "on".

Nelle fasi iniziali di malattia, quando la compromissione motoria ancora non interferisce con le normali attività quotidiane, il trattamento sintomatico può non rendersi necessario, oppure possono essere utilizzati altri farmaci come l'amantadina e neuroprotettivi.

L'amantadina ha un duplice effetto in quanto possiede parziale attività dopamino-agonista e modesta azione anticolinergica. L'effetto terapeutico è precoce, ma ha durata ed entità generalmente limitate.

Con il progredire della malattia diviene necessario un trattamento sintomatico più adeguato e si pone, pertanto, il problema della scelta tra l'impiego della levodopa e quello dei dopamino-agonisti o della loro associazione (Loeb e Favale, 2005).

I farmaci dopamino-agonisti stimolano direttamente i recettori postsinaptici con una specificità diversa per i diversi sottotipi da D1 a D5; hanno lunga durata d'azione e sono associati ad un minor rischio di fluttuazioni cliniche ma, rispetto alla levodopa, hanno sicuramente inferiore efficacia. Si dividono in derivati dall'ergotamina (lisuride, pergolide, bromocriptina, cabergolina) e prodotti non ergot-derivati come l'apomorfina, il pramipexolo ed il ropinirolo. Gli effetti collaterali sono: nausea, ipotensione ortostatica, turbe psichiche, edemi degli arti inferiori.

L'utilizzo di farmaci neuroprotettivi è volto a rallentare la degenerazione neuronale; numerosi sono state le sostanze proposte a tal fine come antiossidanti, antiapoptotici e neurotrofici. In particolare, la selegilina, un inibitore irreversibile della monoaminoossidasi di tipo B (MAO-B), il principale enzima catabolizzatore della dopamina, permette di ritardare l'impiego della levodopa e di ridurre il dosaggio una volta che il suo uso si renda indispensabile

Trattamento chirurgico:

In epoca pre-levodopa la chirurgia stereotassica è stata ampiamente utilizzata, avendo come "bersaglio" i nuclei talamici (ventrolaterale, ventrale-intermedio). La talamotomia unilaterale era in grado di abolire o ridurre significativamente il tremore controlaterale ed in minor misura la rigidità, ma non l'acinesia, e dimostrava un'incidenza di effetti collaterali di tipo emiparetico pari a circa il 10%. Dopo l'avvento della terapia con levodopa, l'approccio neurochirurgico è stato progressivamente abbandonato, ma l'insorgenza delle complicazioni

legate all'impiego cronico delle terapie farmacologiche ne ha rinnovato l'interesse. La disponibilità di moderni modelli sperimentali della malattia, con la conseguente identificazione di nuovi "target" anatomici, e l'introduzione di metodiche neuroradiologiche (TC-RMI) ad alta definizione, che consentono la precisa localizzazione di tali strutture, ne hanno pertanto favorito lo sviluppo.

Interventi stereotassici di pallidotomia posteriore si sono dimostrati in grado di migliorare il quadro clinico (Lang et al., 1997).

Attualmente, il trattamento chirurgico considerato più efficace è la stimolazione cerebrale profonda (deep brain stimulation, DBS) del nucleo subtalamico che consente un miglioramento globale della sintomatologia ed una riduzione del dosaggio di levodopa (Limousine et al., 1998).

Infine, metodica ancora in fase di sperimentazione e non priva di problematiche etiche e pratiche, è l'impianto nello striato di cellule di sostanza nera fetale per via stereotassica.

Trattamento fisioterapico:

La fisioterapia si focalizza sui problemi inerenti a postura, equilibrio, cammino e trasferimenti, attraverso stimoli esterni (cues) (Nieuwboer et al., 1997), l'insegnamento di strategie motorie alternative (Kamsma et al., 1995), training del passo con treadmill (Miyai et al., 2002) ed esercizi per aumentare la stabilità, la flessibilità della colonna vertebrale e l'escursione articolare globale.

Occorre inoltre ricordare che, con il progredire della patologia, può essere necessario, ai fini di una migliore gestione dei malati, il ricorso a terapie alternative e di supporto quali terapia fisica, suggerimenti dietetici, psicoterapia.

3. I-PD E GBA-PD

La mutazione del gene GBA1 sito nel cromosoma 1q21 è stata definita come il fattore di rischio genetico più significativo associato allo sviluppo della malattia di Parkinson.

Mutazioni bialleliche nel gene GBA1, che codifica per l'enzima glucocerebrosidasi, sono patognomoniche per lo sviluppo della malattia di Gaucher. Varianti eterozigoti di GBA1 sono un fattore di rischio per lo sviluppo del Parkinson.

Approssimativamente 5-30% dei pazienti con Parkinson hanno una mutazione di GBA1 e si è visto che questi pazienti, rispetto agli idiopatici, hanno un maggior rischio di sviluppare demenza a corpi di Lewy (L.Veira 2022).

L'enzima glucocerebrosidasi è coinvolto nel metabolismo dei glicosfingolipidi e dei gangliosidi, clivando la glicosilceramide e la glucosilsfingosina rispettivamente in ceramide e glucosio e sfingosina e glucosio.

Una riduzione di attività dell'enzima porta ad un accumulo di questi substrati nelle cellule di Gaucher (lisosomi e macrofagi) nel fegato, midollo osseo e milza.

La malattia di Gaucher è particolarmente prevalente nella popolazione degli ebrei Aschenaziti(118/100.000) a causa dell'effetto del fondatore, ossia un processo che determina una perdita parziale della variabilità genetica in una popolazione che si è sviluppata a partire da un piccolo numero di individui appartenuti ad una più ampia, a seguito di un prolungato isolamento da quella di origine.

Questa patologia si suddivide in 3 tipi: il primo che non coinvolge il sistema nervoso, ma da sintomi come epatosplenomegalia, osteoporosi e pancitopenia, mentre il secondo e il terzo tipo danno rispettivamente una rapida e lenta degenerazione neurologica con sintomi come crisi miocloniche o generalizzate e movimenti oculari patologici.

Studi autoptici su cervelli di pazienti con malattia di Gaucher hanno dato supporto all'associazione con la malattia di Parkinson tramite il ritrovamento di

una significativa perdita di neuroni dopaminergici nella sostanza nera e aggregazioni citotossiche di Corpi di Lewy.

La penetranza della mutazione GBA eterozigote è variabile e età-dipendente con un rischio cumulativo di sviluppare il Parkinson del 5% e aumenta fino al 10-30% tra i 60-80 anni.

Le cause per cui la fenocconversione in Parkinson rimane relativamente bassa negli individui con mutazione biallelica o eterozigote di GBA rimane ad oggi sconosciuta.

Le sottili differenze riscontrate nel Parkinson GBA positivo rispetto a quello idiopatico sono una minore età di onset (1,7-6 anni prima), un UPDRS-III maggiore, maggiore frequenza di demenza, allucinazioni visive e maggiore severità dei sintomi non motori; in particolare la depressione.

Inoltre, il Parkinson GBA si è dimostrato avere una progressione più rapida e un tasso di sopravvivenza ridotto rispetto agli IPD.

Anche le complicazioni motorie, i wearing-off, gli ON ritardati e le discinesie sono prevalenti e hanno un esordio più precoce nella malattia su base genetica (Jesus et al.2016; Zhang 2018)

I pazienti con mutazione GBA hanno anche il rischio triplo di declino cognitivo che coinvolge maggiormente la Working Memory e le funzioni esecutive e visuospatiali.

La clearance deficitaria dell' α -Sinucleina nei pazienti con mutazione GBA porta a una patologia accelerata nelle aree corticali che sottolinea l'aumento di deterioramento cognitivo e anche della demenza.

Infine, per quanto riguarda la clinica, i pazienti GBA hanno anche sintomi autonomici più frequenti come iposmia, costipazione, ipotensione ortostatica e disfunzioni urogenitali (Brockmann 2011).

Nel Parkinson sono molto frequenti sintomi non motori come quelli neuropsichiatrici, disfunzioni autonome, disturbi del sonno REM, iposmia e

il deterioramento cognitivo, i quali sono molto invalidanti, ma non rispondono adeguatamente alla terapia dopaminergica sottointendendo quindi il coinvolgimento di altri neurotrasmettitori.

Inoltre, studi recenti hanno evidenziato che questi sintomi non motori o motori lievi potrebbero caratterizzare una fase prodromica che possono precedere la diagnosi fino a 20 anni.

Ad oggi rimane impossibile differenziare solo con tecniche di neuroimaging le forme GBA da quelle IPD.

Studi di neuropatologia, però hanno riscontrato nei pazienti GBA aggregati di Corpi di Lewy in regioni corticali, comprese le regioni ippocampali CA2-4 oltre che nella sostanza nera classicamente affetta negli IPD.

Altro fattore da considerare è che l'attività della glucocerebrosidasi è ridotta al 58% nei pazienti GBA-PD, del 67% negli IPD e a meno del 15% nella malattia di Gaucher, ma solo una minoranza dei pazienti con Gaucher sviluppa Parkinson e ciò sta a dimostrare che il rischio di sviluppo della patologia non è proporzionale all'attività dell'enzima (L.Veira 2022)

4. ATTIVITA COLINERGICA

Il sistema colinergico del cervello, in particolare il complesso colinergico del lobo frontale basale, è fondamentale per le proiezioni colinergiche nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo. In passato si riteneva che l'invecchiamento fosse accompagnato da una significativa perdita di cellule colinergiche, ma questa visione è stata rivalutata. Oggi si sa che il declino colinergico durante l'invecchiamento normale è graduale e dovuto a degenerazione dendritica, sinaptica e assonale, nonché a una riduzione del supporto trofico. Ciò porta a una diminuzione dell'espressione genica, a problemi nel segnale intracellulare e nel trasporto citoscheletrico, che possono portare all'atrofia delle cellule colinergiche e al conseguente declino funzionale del cervello, incluso il calo delle funzioni cognitive associate all'invecchiamento (Schliebs 2011).

In condizioni patologiche come nel Parkinson, si osserva invece una degenerazione significativa delle cellule colinergiche del lobo frontale basale.

Nel morbo di Parkinson, si verificano alterazioni colinergiche eterogenee in diverse regioni cerebrali, correlate con sintomi sia motori che non motori, resistenti alla terapia dopaminergica. Queste alterazioni possono essere comprese in un contesto sistemico, dove i deficit nodali portano a disfunzioni dei circuiti. Le topografie dei cambiamenti colinergici si sovrappongono con le circuitazioni neurali coinvolte nel sonno, nelle funzioni cognitive, motorie, visivo-uditive e autonome. I deficit colinergici all'interno degli snodi della rete cognitiva predispongono meglio ai deficit cognitivi rispetto ai cambiamenti colinergici totali del cervello. L'instabilità posturale e le difficoltà di deambulazione sono associate a cambiamenti del sistema colinergico in nodi talamici, caudati, limbici, neocorticali e cerebellari. I deficit del sistema colinergico possono coinvolgere anche organi periferici (Nicolaas 2022)

L'attività ipercolinergica dei neuroni colinergici mesopontini nelle persone con isolato disturbo comportamentale del sonno REM, così come negli ippocampi di pazienti con Parkinson cognitivamente normali, suggerisce una compensazione precoce durante le fasi prodromiche e iniziali della malattia.

Inoltre, studi precedenti sul PD hanno suggerito che l'attività colinergica centrale sia già anormale nelle prime fasi di malattia, contribuendo già precocemente al peggioramento dell'andatura e ai disturbi cognitivi (Rochester 2012)

Per studiare l'attività colinergica un paradigma frequentemente usato è la SAI (Short Afferent Inhibition) tramite la TMS.

Questa tecnica neurofisiologica è già stata utilizzata nel contesto della patofisiologia sia nel Parkinson che nell'invecchiamento sano e ci sono forti evidenze scientifiche che supportano la SAI come marcatore dipendente dell'attività colinergica nell'eccitabilità intracorticale.

5.LO STUDIO

La mia tesi si sviluppa all'interno di uno studio finanziato dalla Micheal J.Fox Foundation, il quale si propone di utilizzare la neurofisiologia come strumento di stratificazione della sinucleinopatia e coinvolge l'Università degli Studi di Genova e il Dipartimento di Neurologia del Tel Aviv Sourasky Medical Center.

5.1 RAZIONALE

Il Parkinson è una condizione degenerativa dei gangli della base accompagnata dalla degenerazione dei neuroni dopaminergici della sostanza nigra pars compact che proiettano allo striato, ma sebbene questo sia il network sottocorticale principale per il controllo motorio, molti sintomi, sia motori che non, sembrano essere espressione anche di una disfunzione colinergica.

Il disturbo della deambulazione ha una fisiopatologia poco compresa ma sembra essere dovuta proprio alla degenerazione colinergica in aggiunta alla degenerazione della sostanza nera pars compacta.

La SAI tramite TMS è una misura surrogata di questa attività colinergica e potrebbe quindi servire come predittore indipendente nel disturbo del cammino nella fase iniziale di malattia e potrebbe servire anche a valutarne la progressione (Rochester 2012).

Infatti, studi in letteratura hanno dimostrato che maggiore è la stadiazione di H&Y nei pazienti con PD minore è l'inibizione a breve latenza e questo potrebbe dimostrare il peggioramento colinergico con la progressione della malattia (Choudhury 2023)

Recenti studi genetici hanno inoltre identificato i GBA-PD come pazienti con una progressione più rapida dei sintomi e con un maggiore deterioramento cognitivo. Il declino cognitivo, relativamente precoce, osservato nella GBA-PD è stato attribuito ad una doppia disfunzione, ovvero colinergica e

dopaminergica, derivante da una traiettoria degenerativa più aggressiva nell'ambito della sinucleinopatia. Sulla base di queste evidenze, è possibile ipotizzare che pazienti con iPD con durata di malattia maggiore e i pazienti con GBA-PD abbiano una connettività funzionale ridotta e una minore SAI (espressione dell'attività colinergica) e LAI (espressione di connettività cortico-corticale), rispetto all' iPD con durata di malattia minore.

5.2 OBIETTIVI

Il primo obiettivo dello studio si propone di identificare nuovi marcatori surrogati neurofisiologici per valutare l'impatto della sinucleinopatia utilizzando l'elettroencefalografia (EEG) e la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) in pazienti affetti da malattia di Parkinson (PD)

Il secondo obiettivo è quello di esaminare se questi marcatori possono essere in grado di classificare i pazienti in base alla durata di malattia (e severità della stessa) e alla traiettoria di progressione della malattia.

Il raggiungimento di questi obiettivi contribuirà allo sviluppo di biomarcatori più efficienti e specifici che potranno essere utilizzati in futuri trials clinici con l'obiettivo di modificare la progressione della sinucleinopatia in pazienti affetti da PD.

5.3 MATERIALI E METODI

Lo scopo dello studio è di saggiare l'efficacia di due tecniche neurofisiologiche non invasive, valide, ampiamente disponibili e relativamente poco costose, che hanno il potenziale di identificare dei biomarcatori sensibili e specifici della malattia, i quali potrebbero essere utilizzati ad ampia scala come strumenti di screening nella pratica clinica.

La valutazione comprenderà valutazioni cliniche (ovvero, valutazione neurologica, valutazione cognitiva e motoria) e due valutazioni neurofisiologiche (EEG e TMS-SAI LAI).

5.3.1 PARTECIPANTI

Per la mia tesi sono stati reclutati 68 pazienti di cui 22 con esordio di Parkinson idiopatico >5 anni, 21 pazienti con Parkinson idiopatico con esordio da <5anni, 8 pazienti con Parkinson GBA con esordio da <5anni. Come soggetti di controllo, sono stati reclutati 17 controlli sani (soggetti con età>65 anni che riportano almeno due cadute negli ultimi 6 mesi). Uno studio precedente ha infatti messo in evidenza che tali pazienti presentano un'a disfunzione colinergica iniziale, maggiore di soggetti di età comparabile senza storia di caduta (Pelosin et al., XX).

CRITERI DI INCLUSIONE: 1) diagnosi di PD, come definita dai criteri di diagnosi clinica MDS, 2) età compresa tra 45 e 80 anni, 3) punteggio di Hoehn e Yahr 1-3 incluso, 4) punteggio del Montreal cognitive assessment (MOCA)>21 e 5) valutazione al test genetico

Per i soggetti sani di controllo età compresa tra 45-80 e minimo di 2 cadute negli ultimi 6 mesi e nessuna diagnosi di Parkinson e altre patologie neurodegenerativi

CRITERI DI ESCLUSIONE: 1) chirurgia cerebrale in passato (Deep Brain Stimulation), 2) co-morbilità clinicamente significative in grado di influenzare la capacità cognitiva, tra cui depressione maggiore (secondo i criteri del DSM IV), storia di ictus o altre malattie neurologiche. Tutti i soggetti forniranno un consenso informato scritto prima della partecipazione.

5.3.2 VALUTAZIONI CLINICHE

La valutazione neurologica comprenderà la raccolta dei dati demografici, l'anamnesi generale, l'anamnesi del paziente, la dose equivalente di levodopa (LEDD) e la Movement Disorders Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS) parte III.

LEDD

La LEDD, ossia la dose equivalente di Levodopa, si usa per standardizzare e confrontare le dosi di diversi farmaci antiparkinsoniani in termini di potenza rispetto alla Levodopa, la quale è considerata il trattamento di riferimento per il Parkinson.

Per ottenerla sono state sviluppate delle formule di conversione tra i diversi farmaci antiparkinsoniani, così da permettere di valutare e confrontare l'efficacia dei vari trattamenti, indipendentemente dal farmaco specifico utilizzato (Jost et al. 2023)

UPDRS III

Per quanto riguarda la valutazione clinica ci siamo avvalsi dell'UPDRS (Figura 1) parte terza, ossia la parte che riguarda la valutazione motoria, nella quale si da un punteggio da 0-4 (0=normale, 1=limitazione minima, 2=limitazione lieve, 3=limitazione moderata, 4=limitazione grave) per ogni item e valgono solo punteggi interi.

All'inizio della valutazione bisogna segnalare se il paziente si trova in quel momento in fase ON/OFF della malattia, se assume Levodopa e se sì da quanti minuti l'ha assunta.

Vengono fornite istruzioni specifiche per la valutazione di ogni item. Queste devono essere seguite in ogni caso. Lo sperimentatore mostra al paziente il compito che deve completare mentre glielo descrive e, immediatamente dopo, deve fare la valutazione. Gli item Mobilità Spontanea Globale e Tremore a Riposo (3.14 e 3.17) sono stati inseriti di proposito alla fine della scala perché le informazioni cliniche per la loro valutazione saranno ottenute durante l'intero esame. Al termine della valutazione, indicare se durante l'esame era presente discinesia (corea o distonia) e in tal caso se questi movimenti hanno interferito con la valutazione motoria (Movement Disorder Society 2008).

Punteggio Scala MDS-UPDRS

Sig. Data

1.A	Fonte primaria d'informazione	<input type="checkbox"/> Paziente <input type="checkbox"/> Caregiver <input type="checkbox"/> Paziente + caregiver
Parte III - Esame Motorio		
3a	Il paziente è in terapia?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si
3b	Stato clinico del paziente	<input type="checkbox"/> Off <input type="checkbox"/> On
3c	Il paziente è in Levodopa?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si
3.c1	Se è così, indicare i minuti trascorsi dall'ultima somministrazione	
3.1	Eloquio	
3.2	Mimica facciale	
3.3a	Rigidità del collo	
3.3b	Rigidità del braccio destro	
3.3c	Rigidità del braccio sinistro	
3.3d	Rigidità della gamba destra	
3.3e	Rigidità della gamba sinistra	
3.4a	Movimenti ripetuti dita mano destra	
3.4b	Movimenti ripetuti dita mano sinistra	
3.5a	Movimenti della mano destra	
3.5b	Movimenti della mano sinistra	
3.6a	Movimenti prono-supinazione mano destra	
3.6b	Movimenti prono-supinazione mano sinistra	
3.7a	Movimenti ripetuti dita piede destro	
3.7b	Movimenti ripetuti dita piede sinistro	
3.8a	Agilità gamba destra	
3.8b	Agilità gamba sinistra	
3.9	Alzarsi dalla sedia	
3.10	Marcia	
3.11	Blocco della marcia	
3.12	Stabilità posturale	
3.13	Postura	
3.14	Spontaneità globale dei movimenti	
3.15a	Tremore posturale mano destra	
3.15b	Tremore posturale mano sinistra	
3.16a	Tremore cinetico mano destra	
3.16b	Tremore cinetico mano sinistra	
3.17a	Ampiezza del tremore a riposo braccio destro	
3.17b	Ampiezza del tremore a riposo braccio sinistro	
3.17c	Ampiezza del tremore a riposo gamba destra	
3.17d	Ampiezza del tremore a riposo gamba sinistra	
3.17e	Ampiezza del tremore a riposo labbra/mascella	
3.18	Continuità del tremore a riposo	
	La discinesia è presente	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si
	I movimenti hanno interferito con la valutazione?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si
	Scala di Hoehn e Yahr	

Copyright © 2008 International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS). All rights reserved. La versione italiana del MDS-UPDRS è riprodotta su licenza di "International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS)". Tutti i diritti riservati.

(Figura 1)

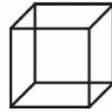
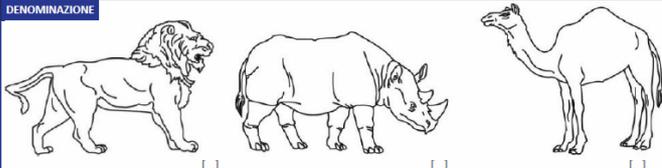
La valutazione cognitiva comprenderà il test Montreal (MOCA) (Figura 2).

Qui sotto in allegato il MOCA che ha un massimo di 30 punti e viene valutato normale se si ottiene un punteggio >26. L'età e l'istruzione influenzano significativamente le prestazioni dei soggetti durante la batteria di test e per questa ragione esistono delle tabelle di correzione.

Si tratta di un test di screening ampiamente utilizzato che valuta più aspetti neurocognitivi come la memoria, il linguaggio, le funzioni visuo-spaziali e esecutive, l'attenzione, l'astrazione, la denominazione e l'orientamento.

Questa scala di valutazione viene somministrata con lo scopo di fare uno screening cognitivo generale, che orienta l'esaminatore sul tipo e sull'entità del deficit. Rispetto all'altro test di screening delle funzioni cognitive generali, ossia il MMSE (Mini Mental State Examination), il MOCA è molto più sensibile, riuscendo a elicitarne deficit anche di lieve intensità (la MOCA ha generalmente un punteggio più basso di 5 punti rispetto al MMSE). Per questa ragione, se il paziente presenta un deficit severo/ moderato, spesso non riesce a svolgere il test (MOCA). Inoltre, questo test presta più attenzione alle funzioni esecutive e proprio per questa ragione viene usato nei parkinsonismi dove sono alterate.

MoCA Versione 8.1 Italian (Italy) Nome: _____
Scolarità: _____
Sesso: _____
Data di nascita: _____
DATA: _____

VISUOSPAZIALE/ESECUTIVO		Copiare il cubo 	Disegnare un orologio (undici e dieci) (3 punti) <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> [] Contorno [] Numeri [] Lancette </div>	PUNTI																												
	[]	[]		_ / 5																												
DENOMINAZIONE				[]	_ / 3																											
MEMORIA	Leggere la lista di parole, il soggetto deve ripeterle. Eseguire due prove, anche se la prima è stata superata con successo. Eseguire un richiamo dopo 5 minuti.	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>FACCIA</td> <td>VELLUTO</td> <td>CHIESA</td> <td>MARGHERITA</td> <td>ROSSO</td> </tr> <tr> <td>1° PROVA</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2° PROVA</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO	1° PROVA						2° PROVA							NESSUN PUNTO										
	FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO																											
1° PROVA																																
2° PROVA																																
ATTENZIONE	Leggere la serie di cifre (una cifra/sec.). Il soggetto deve ripeterle nel seguente ordine [] 2 1 8 5 4 Il soggetto deve ripeterle in ordine inverso. [] 7 4 2				_ / 2																											
	Leggere la serie di lettere. Il soggetto deve dare un colpo con la mano sul tavolo ad ogni lettera A. Nessun punto se ≥ 2 errori [] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B				_ / 1																											
	Sottrarre 7 partendo da 100. [] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65 4 o 5 sottrazioni corrette: 3 punti, 2 o 3 corrette: 2 punti, 1 corretta: 1 punto, 0 corrette: 0 punti				_ / 3																											
LINGUAGGIO	Ripetere: So solo che oggi dobbiamo aiutare Giovanni. [] il gatto si nascondeva sempre sotto il divano quando c'erano cani nella stanza. []				_ / 2																											
	Fluency verbale. In 1 minuto nominare il maggior numero possibile di parole che iniziano con la lettera F. [] ____ (N ≥ 11 parole)				_ / 1																											
ASTRAZIONE	Similitudini tra es. banana - arancia = frutta [] treno - bicicletta [] orologio - righello				_ / 2																											
RICHIAMO DIFFERITO	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>(MIS)</td> <td>Le parole devono essere ricordate SENZA AIUTO</td> <td>FACCIA</td> <td>VELLUTO</td> <td>CHIESA</td> <td>MARGHERITA</td> <td>ROSSO</td> </tr> <tr> <td>Punteggio indice di Memoria (MIS)</td> <td></td> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> </tr> <tr> <td>X2</td> <td>Cue categoriale</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>X1</td> <td>Cue scelta multipla</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	(MIS)	Le parole devono essere ricordate SENZA AIUTO	FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO	Punteggio indice di Memoria (MIS)		[]	[]	[]	[]	[]	X2	Cue categoriale						X1	Cue scelta multipla								Punti solo per la ripetizione SENZA AIUTO MIS = ____ / 15
(MIS)	Le parole devono essere ricordate SENZA AIUTO	FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO																										
Punteggio indice di Memoria (MIS)		[]	[]	[]	[]	[]																										
X2	Cue categoriale																															
X1	Cue scelta multipla																															
ORIENTAMENTO	[] Data [] Mese [] Anno [] Giorno della settimana [] Luogo [] Città				_ / 6																											
© Z. Nasreddine MD www.mocatest.org MIS: _____ / 15 Somministrato da: _____ (Norma ≥ 26/30)					_ / 30																											
Si richiede Training and Certification per garantire l'accuratezza. Aggiungere 1 punto se ≤ 12 anni di Istruzione					_ / 30																											

MoCA - Italy/Italian - Version of 19 Feb 2018 - Revision of 18 Gen 2022
Traduzione a cura di: A. Bonansea, F. Gallo, SC Psicologia ASL TO3, Regione Piemonte.

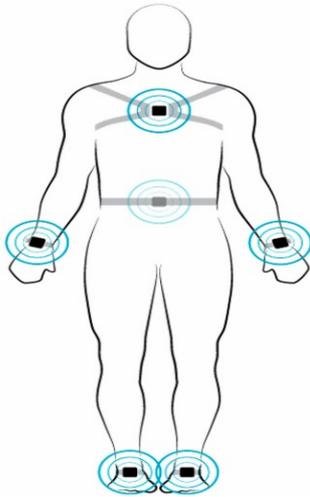
(Figura 2)

Per quanto riguarda la valutazione motoria, i partecipanti sono stati sottoposti a una valutazione strumentale dell'andatura, mentre il partecipante indossava 5 piccoli sensori di misura inerziale a 3 assi sincronizzati (Opal APDM, USA)

OPAL

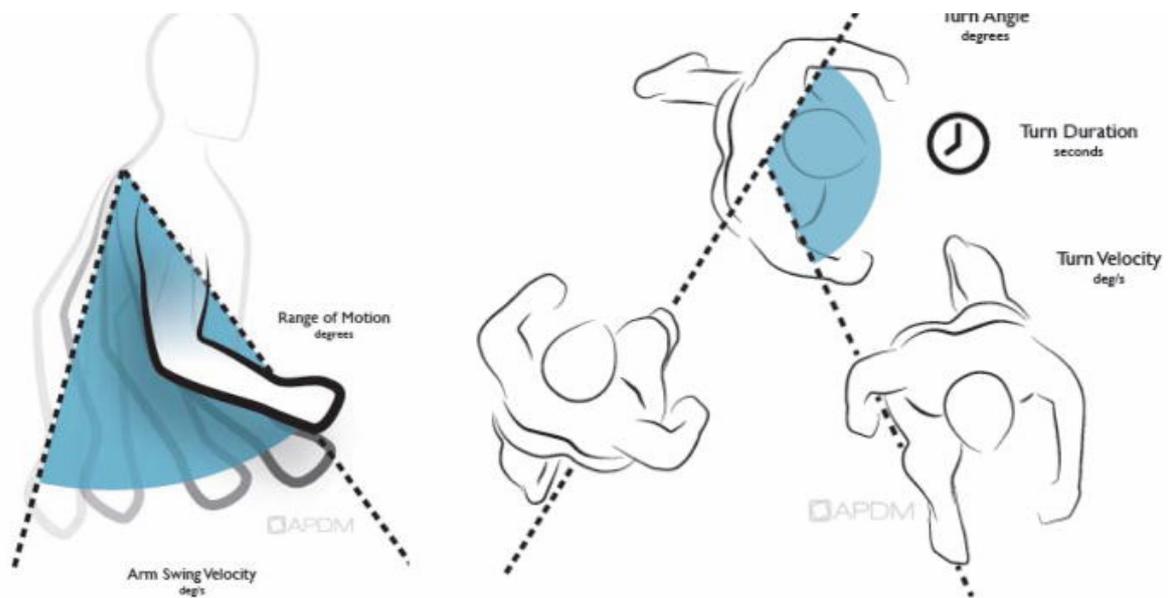
Questo strumento è un sistema di sensori inerziali (Figura 3) che fornisce dati cinematici riguardo il movimento dei nostri pazienti.

Il Mobility Lab è costituito da diversi componenti. La strumentazione fondamentale è costituita da un set di sensori inerziali wireless indossabili chiamati Opal, ciascuno dotato della propria stazione di attacco. È presente un Access Point per la trasmissione wireless dei dati e la sincronizzazione con ciascun sensore. Tale strumento permette la comunicazione senza fili tra il computer host e i sensori di movimento Opal. È presente anche una Docking Station che serve per ricaricare la batteria dei sensori Opal, configurarli e trasferire i dati registrati al computer tramite un connettore USB. Sul pc host deve essere installato un software applicativo fondamentale per configurare gli Opal, raccogliere, archiviare, visualizzare e analizzare i dati ed esportarli in diversi formati. La strumentazione è anche dotata di imbraghi e cinture con velcro e moschettoni per posizionare gli Opal sul corpo del paziente e regolarli in base alla conformazione fisica di ciascun soggetto. La strumentazione è poco ingombrante ed è sufficiente avere un tavolo dove appoggiare gli strumenti e una stanza dove fare eseguire le prove al paziente. Ciascun Opal include un accelerometro su tre assi, un giroscopio e un magnetometro. L'accelerometro misura l'accelerazione inerziale del corpo sull'asse verticale (y), orizzontale destra sinistra (x) e orizzontale avanti-dietro (z). Il giroscopio, invece, misura l'accelerazione angolare sugli assi x, y, z.)



(Figura 3)

Gli Opal, inoltre, ci permettono di analizzare la durata, il numero di passi, l'accelerazione massima e l'angolo degli aggiustamenti posturali che avvengono quando si richiedono al paziente determinati gesti. Utilizzando tutti i sei Opal è possibile eseguire prove di stabilità posturale sia statiche che dinamica valutando l'ampiezza, l'accelerazione, la rotazione e la velocità media delle oscillazioni posturali. È semplice da utilizzare, portatile e chiaro. La figura mostra un esempio di cosa misura l'Opal durante il cammino e durante il turning (Figura 4).



(Figura 4)

5.3.3. VALUTAZIONI NEUROFISIOLOGICHE

EEG

L'elettroencefalografia EEG è una tecnica che permette di studiare l'attività elettrica cerebrale a livello superficiale, registrando la variazione del potenziale elettrico prodotto dai neuroni della corteccia cerebrale. Essa ci permette di studiare comportamenti diversi, sia statici come il sonno sia dinamici durante l'esecuzione di compiti cognitivi e motori. Lo studio non invasivo del cervello si è concentrato sulla parte più esterna, la corteccia cerebrale, in quanto è la porzione encefalica di più recente sviluppo evolutivo rispetto alle altre e inoltre la più "facilmente" accessibile attraverso il cuoio capelluto. I neuroni corticali si dividono in due tipi principali: piramidali e non piramidali. Le cellule piramidali proiettano sia lunghi assoni alle altre strutture interne dell'encefalo, sia ramificazioni laterali in direzione parallela ai piani corticali, contribuendo così alla buona integrazione dei segnali afferenti e giocando un ruolo fondamentale alla formazione del segnale EEG grazie alla loro orientazione verticale. Infatti, il maggior contributo al segnale EEG è dato da tali cellule (Holmes and Zhazipov 2007; Kandel et al. 2013.)

Le cellule non piramidali hanno il ruolo principale di interneuroni e rilasciano GABA come neurotrasmettitore e hanno struttura sostanzialmente diversa; in genere i loro assoni non lasciano la corteccia cerebrale ma terminano su neuroni vicini, sono disposte con un orientamento meno ordinato rispetto alle cellule piramidali e danno così un campo di flusso di corrente nullo per un osservatore a una certa distanza (Levitan et al., 2002).

Ogni neurone può essere raggiunto da due tipi differenti di input sinaptici: quelli che causano una depolarizzazione della membrana post-sinaptica del neurone, rendendola più eccitabile e facilitando la formazione di un potenziale d'azione (potenziali post-sinaptici eccitatori PPSE); e quelli complementari, che causano una iperpolarizzazione della membrana post-sinaptica

impedendo la formazione di potenziali d'azione (potenziali post-sinaptici inibitori PPSI).

L'effetto finale sul neurone sarà il risultato della sommatoria temporale e spaziale dei vari segnali che gli giungono (Nunez et al., 1981). I potenziali postsinaptici sono generati grazie a neurotrasmettitori che si legano alla membrana post-sinaptica e sono i maggiori componenti del segnale EEG poiché creano un picco di voltaggio più ampio e più duraturo (Niedermeyer and Lopes da Silva 2005).

Il segnale EEG viene registrato tramite due elettrodi che permettono di calcolare la differenza di voltaggio tra le due aree dove vengono posizionati.

Il segnale è costituito da onde e oscillazioni generate dalla corrente creata a livello di sinapsi neuronali a livello corticale. Tuttavia, affinché il segnale riesca ad attraversare gli strati di tessuto non neurale come ossa, meningi e pelle non è sufficiente il contributo elettrico di un neurone singolo. Infatti, per generare un segnale tale da poter essere registrato dagli elettrodi è necessaria l'attività sincronizzata di migliaia di neuroni. Ciò evidenzia il fatto che un segnale EEG con onde ampie e ritmiche è generato da un elevato numero di neuroni che si attivano con un timing corretto e in maniera sincronizzata. Nel caso in cui, invece, vi fosse un'attivazione ampia di neuroni superficiali, ma non di quelli sottostanti si avrebbe un segnale poco ampio.

Allo stesso modo, l'eccitazione significativa di un buon numero di neuroni, non simultanea a livello temporale, genererebbe un segnale EEG con onde irregolari (Bear, Connors, Paradiso 2016).

TMS

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) (Figura5) è una tecnica non invasiva che utilizza campi magnetici per indurre attività elettrica nel cervello, influenzando i neuroni corticali. Il meccanismo di base della TMS coinvolge la generazione di un campo elettrico variabile nel tempo attraverso un campo

magnetico, che a sua volta induce depolarizzazione negli assoni mielinizzati dei neuroni, potenzialmente generando potenziali d'azione (Hallett,2007).

Generazione del Campo Magnetico

Il cuore del dispositivo TMS è un solenoide che genera un campo magnetico quando attraversato da corrente elettrica. Questo campo magnetico, variabile nel tempo, viene applicato alla testa del soggetto. La variazione temporale del campo magnetico è cruciale per indurre un campo elettrico nei tessuti cerebrali sottostanti, secondo la legge di Faraday dell'induzione elettromagnetica (Pascual-Leone,2000)

Induzione del Campo Elettrico

Quando il campo magnetico attraversa la superficie cranica, induce un campo elettrico nel cervello. Questo campo elettrico può depolarizzare le membrane neuronali, superando il loro potenziale soglia. La depolarizzazione è particolarmente efficace negli assoni mielinizzati delle cellule piramidali e degli interneuroni inibitori, localizzati nella corona delle circonvoluzioni corticali.

Generazione dei Potenziali d'Azione

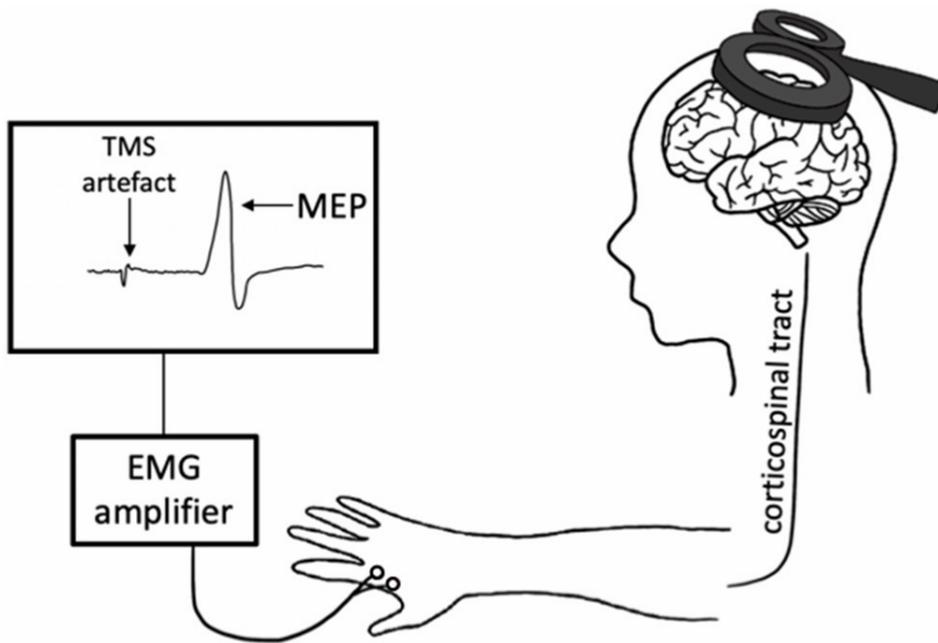
Superando il potenziale soglia, il campo elettrico indotto causa la generazione di potenziali d'azione nei neuroni stimolati. Questi potenziali d'azione si propagano lungo gli assoni e attraverso le sinapsi, influenzando non solo l'area corticale direttamente stimolata ma anche le aree cerebrali connesse.

Risposte Neurali e Potenziali Evocati Motori (MEP)

Uno degli effetti misurabili della TMS è la produzione di risposte motorie, note come potenziali evocati motori (MEP). Questi MEP riflettono l'eccitabilità della membrana delle strutture neurali stimulate e possono essere registrati

variando sistematicamente l'intensità e la durata dell'impulso TMS. Questa variazione permette di tracciare una curva di funzione soglia, utile per valutare la reattività corticale.

In sintesi, la TMS è uno strumento potente per studiare la funzione cerebrale e ha il potenziale per essere utilizzata in applicazioni terapeutiche. I meccanismi sottostanti sono complessi e coinvolgono la depolarizzazione neuronale, la propagazione dell'eccitazione e la modulazione della connettività cerebrale.



(Figura 5)

SAI & LAI (Figura 6)

SAI

La SAI (Short Afferent Inhibition- Inibizione a Latenza Breve) è un fenomeno neurofisiologico in cui la stimolazione sensoriale di un nervo periferico (per esempio il nervo mediano) porta a una riduzione rapida e temporanea dell'eccitabilità della corteccia motoria.

Questo effetto si manifesta in un intervallo di tempo molto breve, generalmente compreso tra 20-30 millisecondi dopo lo stimolo sensoriale,

poiché gli input sensoriali attivano gli interneuroni inibitori nella corteccia somatosensoriale, che poi a loro volta proiettano alla corteccia motoria. Questi ultimi sono dunque i responsabili della riduzione dell'attività dei neuroni piramidali nella corteccia, perché abbassandone temporaneamente l'eccitabilità ne riducono di conseguenza l'attività motoria.

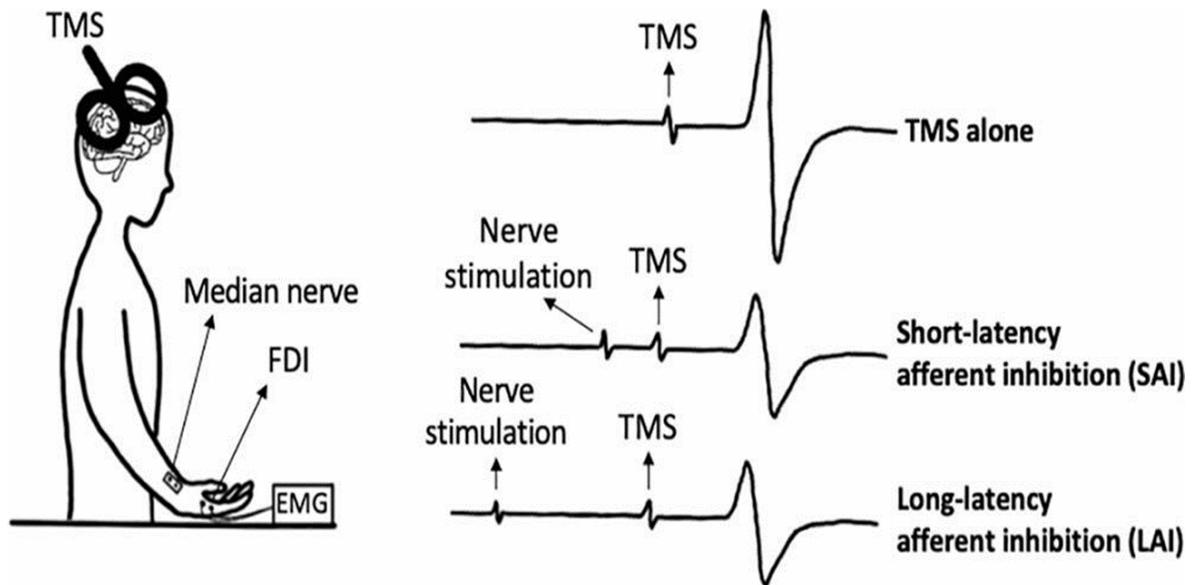
La SAI è quindi cruciale per il controllo motorio fine, aiutando a prevenire risposte motorie inappropriate in presenza di rapidi cambiamenti sensoriali e questo è un meccanismo che permette un adattamento immediato del sistema motorio agli input sensoriali esterni.

LAI

La LAI (Long Afferent Inhibition- Inibizione a Lunga Latenza) si riferisce invece a un fenomeno di inibizione corticale che si manifesta su tempi più lunghi (di solito maggiori di 50 millisecondi) dopo lo stimolo sensoriale.

La LAI viene indotta quindi da stimoli sensoriali che richiedono una risposta più complessa e duratura ed è per questo che anche i circuiti transcorticali coinvolti sono più complessi e potrebbero influenzare diverse popolazioni di interneuroni rispetto alla SAI.

In sintesi, l'integrazione sensorimotoria coinvolge una complessa comunicazione di circuiti neuronali che combinano informazioni sensoriali con comandi motori per garantire movimenti coordinati e adattati e sono esempi di modulazione della risposta motoria in base agli input sensoriali.



(Figura6)

5.3.4 PROTOCOLLO

Le sedute sono state individuali e con una durata media di 2.5 ore.

La prima fase della seduta prevedeva la raccolta dei dati demografici del paziente (inclusi gli anni di scolarità), l'anamnesi generale, l'anamnesi della sua storia di Parkinson e la terapia farmacologica (dal quale viene ricavata la LEDD).

Quindi veniva esaminato il paziente dal punto di vista clinico mediante l'UPDRS parte terza al quale verrà quindi dato un punteggio e dal quale sarà possibile risalire al lato più affetto.

Successivamente si svolgeva la parte della valutazione neurocognitiva e questa comprendeva: la scala SCOPA-COG, il test del colore (CTT), il test CLOX e infine il MOCA.

La valutazione strumentale dell'andatura tramite Opal sarà invece il terzo esame effettuato e consiste in una prima fase di Normal Walking, ossia nel camminare per 1 minuto in un in un corridoio ben illuminato alla velocità abituale preferita e poi in una seconda fase con un altro minuto di camminata,

ma con Dual Task che consiste nel sottrarre in serie 7 da un numero a 3 cifre che non finisca con 0 o 7.

Le valutazioni sono state eseguite mentre il partecipante indossava 5 sensori inerziali OPAL posizionati: a livello della parte bassa della schiena (livello delle vertebre lombari L4-L5), su ciascun polso e su ciascuna caviglia.

Infine, si applicavano i due biomarcatori ossia la TMS e l'EEG

PROTOCOLLO EEG

Sono stati acquisiti dieci minuti di EEG a riposo (di cui cinque minuti a occhi chiusi e cinque minuti a occhi aperti) utilizzando il sistema EEG actiCHamp (Brain Products).

Il sistema include una registrazione a 64 canali a una frequenza di campionamento di 250 Hz.

La cuffia deve essere posizionata in maniera corretta perché gli elettrodi sono sistemati sulla cuffia con un sistema preciso che permette di localizzare la regione corticale registrata da ciascuno di essi. Dunque, vengono utilizzati alcuni punti di repere per localizzare il centro della testa: inion (fossetta sul retro della testa), nasion (depressione tra gli occhi e la base del naso) e i punti preauricolari di destra e di sinistra. Il punto medio delle due linee individuate definisce il centro della testa. I sistemi più utilizzati per posizionare gli elettrodi sono il sistema 10-20 e il 10-5. Il sistema 10-20 è il posizionamento standard e si riferisce al fatto che gli elettrodi sono posti in vari punti dello scalpo a una distanza del 10% e del 20% dell'intera lunghezza di linee che congiungono inion e nasion e le linee preauricolari. Ogni elettrodo è indicato con una lettera che rappresenta la regione corticale che registra e con un numero che rappresenta la distanza dalla linea centrale. Gli elettrodi sulla linea sono indicati con "z", ovvero la posizione zero. I numeri pari sono usati per l'emisfero destro e i dispari per il sinistro. Dopo il posizionamento degli elettrodi si applica il gel conduttore sotto ogni elettrodo con una siringa a punta mozza. La quantità di gel da inserire non deve essere eccessiva per evitare

che si crei un effetto ponte tra elettrodi vicini. Per ottenere una buona registrazione EEG, deve essere controllata l'impedenza di ogni singolo elettrodo attraverso una visualizzazione grafica: il colore verde indica un buon segnale con una bassa impedenza, mentre il rosso e l'arancione indicano un'impedenza maggiore che deve essere risolta prima di iniziare la registrazione. Dopo la registrazione, il segnale viene amplificato e digitalizzato per poi essere salvato sul computer. L'amplificatore non solo trasforma il segnale, ma lo ripulisce anche dal rumore delle interferenze. Il convertitore, invece, trasforma il segnale da analogico a digitale. Le variazioni di voltaggio vengono misurate in Hertz. Una volta eseguiti questi processi, il convertitore invia i dati al sistema di registrazione che ne permette il salvataggio. Quando lo strumento viene rimosso è necessario lavare gli elettrodi e la cuffia per eliminare il gel residuo. È possibile bagnare gli elettrodi e parte dei cavi. Generalmente si utilizzano acqua tiepida per far sciogliere meglio il gel e una spazzolina per rimuoverlo completamente. Una volta terminato il lavaggio, gli elettrodi e la cuffia vengono tamponati con carta o con un asciugamano e lasciati ad asciugare prima di essere rimontati.

Durante la mia tesi sono stati acquisiti i dati EEG resting- state (che denotano attività neurale spontanea, da cui si possono ricavare parametri di connettività cortico-corticale) che sono attualmente in fase di elaborazione e non saranno dunque presentati all'interno della stessa.

PROTOCOLLO TMS

Durante la valutazione con TMS i soggetti erano seduti su una sedia comoda con un poggiatesta. L'elettromiografia è stata registrata con elettrodi di superficie (a disco d'argento) posizionati sul ventre del I° muscolo interosseo dorsale e sul tendine muscolare situato a livello della prima articolazione metacarpo-falangea, bilateralmente. I segnali elettromiografici sono stati amplificati e filtrati (da 20 Hz a 1 kHz) con un amplificatore D360 (Digitimer), poi campionati a 5000 Hz, digitalizzati con un'interfaccia di laboratorio (Power1401; Cambridge Electronics Design) e memorizzati su un personal

computer per l'analisi offline dei dati. La TMS è stata eseguita utilizzando un coil (bobina) collegata a uno stimolatore magnetico Magstim 2002 (Magstim, Regno Unito). Il coil viene posizionato tangenzialmente allo scalpo con un angolo di 45° rispetto al piano sagittale, in modo da direzionare la corrente postero-anteriormente. Viene quindi identificato il cosiddetto "hot spot motorio" (ovvero il punto sullo scalpo in grado di generare il miglior potenziale evocato motorio, MEP) per l'attivazione del del I° muscolo interosseo dorsale. Per eseguire i protocolli di SAI e LAI è stata definita l'intensità dello stimolo necessaria per evocare MEP di circa 0,8-1,0 mV di ampiezza picco-picco. I MEP, nei pazienti affetti da MP, saranno registrati dal lato più affetto, a meno che il tremore eccessivo del paziente non infici l'esame.

Durante la registrazione della SAI e della LAI lo stimolo TMS è preceduto da uno stimolo elettrico sul nervo mediano controlaterale al polso (catodo prossimale, corrente costante a onda quadra, durata 200 ms), con un'intensità impostata appena al di sopra della soglia motoria, ovvero quella necessaria ad evocare una piccola contrazione nel muscolo opponente del pollice. La SAI viene testata utilizzando sei diversi intervalli interstimolo ("stimoli condizionati" a 18, 20, 22, 24, 26 e 28 ms), registrando 15 stimoli per ogni intervallo. Inoltre, sono stati acquisiti 20 stimoli non condizionati (test), ovvero in assenza di stimolazione elettrica. L'ordine di tutti gli stimoli è stato randomizzato. La LAI invece viene testata utilizzando un unico intervallo interstimolo ("stimolo condizionato" a 200 ms), registrando 20 stimoli condizionati e 20 stimoli test, anch'essi somministrati in ordine casuale. La registrazione TMS SAI e LAI è durata all'incirca 20-30 minuti.

I dati relativi al protocollo LAI fanno parte di un sottostudio e non sono stati acquisiti in tutti i soggetti che hanno partecipato alla mia tesi, dunque non saranno commentati.

6.ANALISI DATI

Per l'analisi dei dati i soggetti sono stati divisi in 4 gruppi:

- 1) pazienti con diagnosi di Parkinson idiopatico da <5anni
- 2) pazienti con diagnosi di Parkinson idiopatico da >5anni
- 3) pazienti con diagnosi di Parkinson GBA da <5anni
- 4) controlli sani con età >65 anni e un minimo di 2 cadute negli ultimi 6 mesi

Per quanto riguarda i parametri del cammino, la durata del ciclo del passo è stata calcolata in condizioni di cammino normale e con doppio compito, ed espressa in secondi (s).

Per valutare i cambiamenti nella velocità del cammino indotti dal doppio compito rispetto al singolo compito, è stato calcolato un valore delta come segue:

DualTask Cost= (tempo passo in doppio compito- tempo passo in singolo compito) / tempo passo in singolo compito) × 100.

Per quanto riguarda la TMS, l'ampiezza delle risposte condizionate (SAI) è stata espressa come valore normalizzato sull'ampiezza della risposta allo stimolo test, $SAI = (cond/test)$.

Abbiamo calcolato la media dei valori delle risposte condizionate durante i sei diversi intervalli (18-28 ms) tra gli stimoli per ottenere una media complessiva di SAI (GRAND MEAN).

Analisi Statistiche

Abbiamo verificato che i dati fossero distribuiti normalmente (test di Shapiro-Wilk).

Le differenze tra i gruppi per età, istruzione e MoCA sono state valutate tramite il test non parametrico di Kruskal-Wallis e i confronti post hoc sono stati effettuati con il test U di Mann-Whitney.

La durata del ciclo del passo in condizioni di singolo e doppio compito è stata inserita in una ANOVA per misure ripetute (RM-ANOVA) con il fattore GRUPPO (IPD<5anni, IPD>5anni, PD-GBA<5 anni, Controlli) come fattore tra i soggetti e il fattore CONDIZIONE (cammino normale e con doppio compito) come fattore entro i soggetti.

La media complessiva di SAI è stata confrontata tra i gruppi mediante una ANOVA a una via di Welch, considerando varianza e dimensioni dei campioni non uniformi. Il post-hoc ha sfruttato il test di Games-howell, che non presuppone omogeneità delle varianze.

Abbiamo poi eseguito un'analisi di correlazione tra la SAI mean e diverse variabili che possono essere legate all'attività colinergica: l'età, il punteggio MOCA e i valori di performance del cammino (durata del cammino in usual walking, in dual task e dual task cost). Tali correlazioni sono state eseguite con il test di Pearson.

Il livello di significatività per tutte le analisi è stato fissato a $p < 0,05$, l'analisi post hoc è stata eseguita utilizzando test t, applicando la correzione di Bonferroni per confronti multipli ove appropriato.

Un'analisi di regressione lineare è stata poi eseguita per valutare la potenzialità del valore della SAI mean nel predire la variabilità nella modificazione della performance del cammino da singolo a doppio compito. Un pacchetto statistico standard ha calcolato i rapporti di probabilità (OR), intervalli di confidenza bilaterali al 95% (IC) e valori di p; $p < 0,05$ è stato considerato significativo. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando Jamovi.

7.RISULTATI

Demografici e clinici

I dati demografici, clinici e cognitivi sono riassunti nella Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche dei partecipanti

	iPD <5 anni (mediana, IQR)	iPD>5anni (mediana, IQR)	GBA<5anni (mediana, IQR)	Controlli (mediana, IQR)
Età (anni)	58.5 (11.8)	72 (4.75)	58 (9,5)	73 (6)
M/F	12/9	14/8	2/6	1/16
Scolarità(anni)	13 (4)	9 (6.5)	15 (4.25)	11 (5)
H&Y	1 (0)	3 (1)	1.5 (1)	/
UPDRS (score)	III 11(6)	30(10)	12 (8)	/
LEDD (mg)	257 (222)	939 (276)	465 (245)	/
MoCA (score)	26 (4)	24 (3)	27 (2)	26 (2)

Sono state evidenziate delle differenze statistiche tra i gruppi per quanto riguarda l'età ($p < 0.01$), dove i gruppi di pazienti con durata di malattia < 5 anni sono risultati più giovani dei pazienti > 5 anni e dei controlli anziani (post-hoc $p < 0.01$).

Per quanto riguarda il MoCA, l'Anova ha riportato un valore di $p = 0.02$, dove i confronti post-hoc hanno evidenziato che le popolazioni di IPD <5 anni, PD_GBA <5 anni e i controlli hanno valori del test maggiori del gruppo IPD >5 anni ($p < 0.05$), senza differenze tra loro.

Non ci sono state differenze significative tra i gruppi per il livello di istruzione ($p > 0,05$).

Per quanto riguarda la durata del ciclo del passo:

la RM-ANOVA ha mostrato un effetto principale significativo della CONDIZIONE ($F(1,57) = 24,67$; $p < 0,001$) ma non del GRUPPO ($F(3,57) =$

2,23; $p = 0,1$) ne un'interazione tra GRUPPO e CONDIZIONE ($F(3,57) = 2,29$; $p = 0,09$).

Durante il cammino normale, la durata del ciclo del passo significativamente inferiore rispetto al cammino con doppio compito, senza differenze tra i gruppi.

Nonostante ciò, è interessante osservare come l'unico gruppo che non ha una differenza significativa di durata del ciclo del passo tra il cammino a singolo compito e il cammino a doppio compito siano i controlli sani come si può evincere dalla tabella 2.

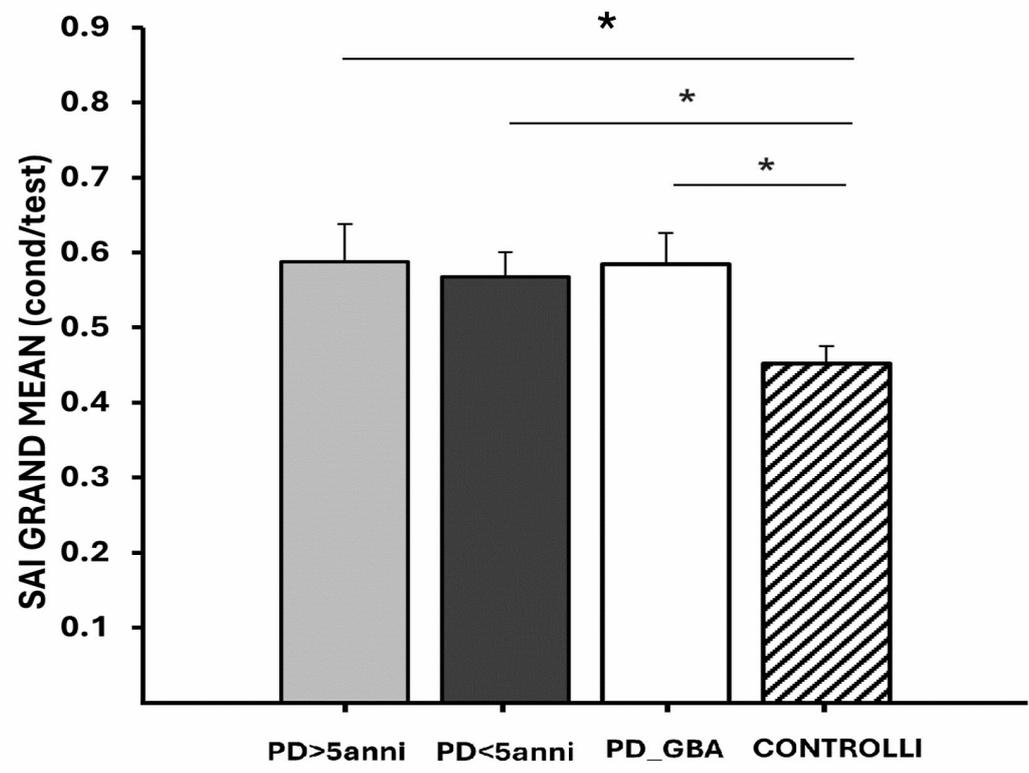
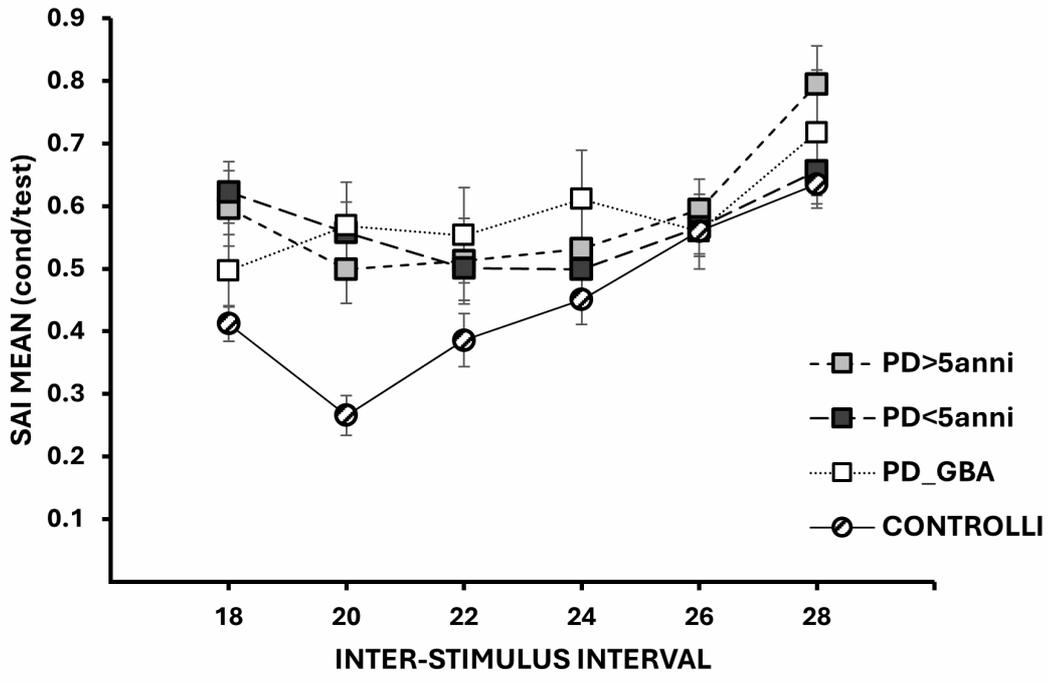
Group	(I) cond	(J) cond	Differenza media (I-J)	Deviazione standard Errore	Sig b	Intervallo di confidenza per la differenza al 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Old	1	2	-0,049	0,019	0,010	0,086	-0,012
	2	1	0,049	0,019	0,010	0,012	0,086
NEW	1	2	-0,105	0,020	0,000	0,145	-0,065
	2	1	0,105	0,020	0,000	0,065	0,145
GBA	1	2	-0,088	0,043	0,049	-0,174	-0,001
	2	1	0,088	0,043	0,049	0,001	0,174
ELD	1	2	-0,035	0,022	0,112	-0,078	0,008
	2	1	0,035	0,022	0,112	-0,008	0,078

(Tabella 2)

RISULTATI SAI

I risultati della SAI sono riportati nella Figura 2A. Una ANOVA a una via ha mostrato un effetto significativo del GRUPPO ($F(3,26) = 4,63$; $p < 0,01$).

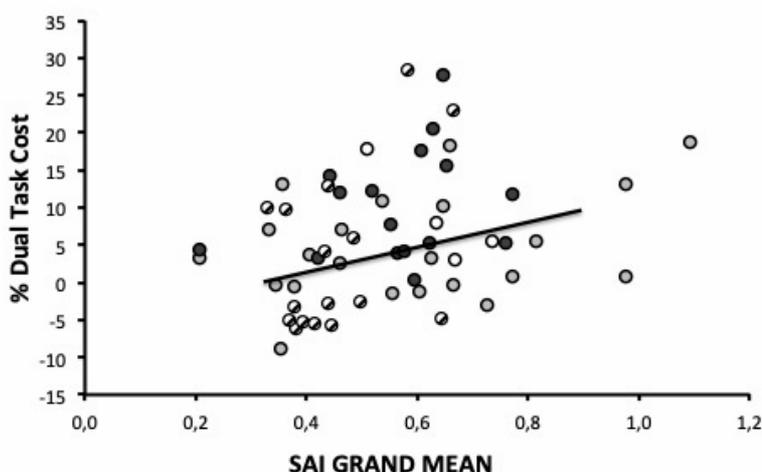
La SAI, ovvero l'inibizione del MEP, è stata significativamente inferiore nei PD < 5 anni ($p=0.04$) e nei PD_GBA ($p = 0.04$) e nei PD > 5 anni ($p= 0.048$) rispetto ai Controlli. (Figura 6 e 7)



(Figura6-7)

Correlazione

L'analisi di correlazione ha mostrato una correlazione significativa tra la SAI mean e il dual task cost per lo stride time ($r= 0.30$, $p=0.02$) e tra la SAI mean e il punteggio al test MOCA ($r= -0.38$, $p=0.003$). Vi è inoltre una correlazione tra l'età e il dual task cost per lo stride time ($p=0.04$). Non vi è correlazione tra la SAI mean e l'età ($p>0.05$) e tra il punteggio MOCA e il dual task cost per lo stride time ($p>0.05$). La relazione tra il cambiamento del tempo del ciclo del cammino durante il doppio compito e la media generale della SAI nella nostra popolazione è riportata in Figura 3: i soggetti che avevano una minore attività colinergica corticale tendevano ad avere un maggiore aumento del tempo richiesto per eseguire un passo, ovvero camminavano più lenti. (Figura 8)



(Figura 8)

LA SAI COME PREDITTORE

Per valutare se l'attività colinergica corticale fosse un predittore del cambiamento nelle caratteristiche del cammino in condizioni di doppio

compito, è stato costruito un modello di regressione lineare, aggiustato per età.

L'analisi di regressione lineare ha mostrato come il modello che prevede il valore della SAI mean e l'età spieghi il 42.9 % della variabilità nel dual task cost per la durata del ciclo del passo (Tabella 3). Sia la SAI mean che l'età sono predittori significativi della modifica della performance del cammino in dual task rispetto al singolo compito (Tabella 4).

Modello	R	R-quadrato	R-quadrato corretto	Deviazione standard Errore della stima
1	0,429	0,184	0,154	0,08028

(Tabella 3)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	p-value	IC 95,0% per B	
	B	Deviazione standard errore	Beta			Limite Inferiore	Limite superiore
MEANSAI	0,146	0,059	0,298	2,449	0,018	0,026	0,265
AGE	-0,003	0,001	-0,306	-2,510	0,015	-0,006	-0,001

(Tabella 4)

8.DISCUSSIONE

I risultati principali del nostro studio sono stati i seguenti: primo, abbiamo riscontrato che i nostri soggetti con Parkinson, sia quelli con diagnosi da meno di 5 anni sia quelli con diagnosi da più di 5 anni, hanno manifestato una disfunzione colinergica rispetto ai controlli sani.

Inoltre, il cambiamento nella durata del ciclo del passo durante il doppio compito ha mostrato una correlazione significativa con la disfunzione colinergica, suggerendo che i soggetti con minore attività colinergica centrale erano più propensi a subire un maggiore aumento del tempo richiesto per eseguire un passo durante il doppio compito. Infine, abbiamo trovato che l'attività colinergica centrale è un predittore del cambiamento nelle caratteristiche del cammino sotto doppio compito nella nostra popolazione, insieme con l'età

Forti evidenze supportano che l'SAI (Short Latency Afferent Inhibition) sia un marker della funzione colinergica dell'eccitabilità intracorticale. Questa tecnica neurofisiologica è stata già utilizzata nel contesto della comprensione della fisiopatologia sia nel Parkinson che nell'invecchiamento sano. Studi precedenti sul Parkinson hanno suggerito che l'attività colinergica centrale è anormale già nelle fasi iniziali della malattia, contribuendo al peggioramento iniziale della deambulazione e ai disturbi cognitivi. Le evidenze nell'invecchiamento sano, invece, hanno collegato l'attività colinergica centrale alle cadute (Pelosin et al. 2016).

Diversi studi precedenti supportano l'ipotesi colinergica del declino cognitivo legato all'età, correlando le misure di imaging del declino strutturale colinergico del proencefalo basale con prestazioni cognitive inferiori negli adulti anziani. Nel Parkinson, la perdita di neuroni colinergici del proencefalo basale e dell'innervazione corticale colinergica associata, è più estesa rispetto al cervello degli adulti anziani e, quando i pazienti con Parkinson sviluppano anche demenza, la perdita colinergica progredisce in modo più severo (Bohnen 2012).

Il paradigma del doppio compito è un test ottimale per investigare l'interazione tra attenzione e controllo motorio. Il deterioramento delle prestazioni osservato nella nostra popolazione di pazienti con Parkinson indica che camminare in questi gruppi richiede un maggiore controllo attentivo, probabilmente a causa della perdita di automaticità. Un segno distintivo del controllo normale del

cammino è l'automaticità, che permette al sistema nervoso di coordinare con successo il movimento con un minimo uso delle risorse attentivo-cognitive. Le abilità motorie automatizzate richiedono poche risorse attentive, mentre se un'abilità motoria non è automatica, richiede considerevoli risorse attentive e neurali (Clark 2015).

Il primo dato che vogliamo commentare parte dall'analisi del dato demografico e clinico, che ci restituisce una popolazione in cui i pazienti con malattia di Parkinson da meno di cinque anni sono più giovani e presentano un'abilità cognitiva migliore rispetto ai pazienti con Parkinson da più di cinque anni. D'altro canto, i dati riguardanti il cammino in doppio compito, mostrano un dato interessante: l'alterazione del cammino in doppio compito non presenta distinzioni tra gruppi. Questo indica come la condizione di doppio compito crea una riduzione della performance simile tra le popolazioni di pazienti (con meno di cinque anni di malattia, IPD e GBA, e con più di cinque anni). Questo dato mostra come già nei pazienti significativamente più giovani vi sia una difficoltà di gestione del doppio compito, difficoltà che si mantiene nei pazienti più anziani.

Questo dato trova un riscontro neurofisiologico nell'alterazione colinergica, in cui la SAI risulta alterata in tutti i gruppi di pazienti con Parkinson rispetto ai soggetti anziani di controllo.

Questo indica come l'alterazione dei circuiti colinergici sia già presente fin dai primi anni dalla diagnosi.

Infine, l'analisi di questi dati relativi al sistema colinergico, testato sia a livello comportamentale che a livello neurofisiologico, sembrerebbe non essere in grado di dimostrare la progressione più rapida dei pazienti con alterazione genetica (PD_GBA), che non si dimostrano differenti dai pazienti idiopatici con la stessa durata di malattia. Purtroppo, bisogna sottolineare che la popolazione di pazienti GBA con durata di malattia < 5 anni è attualmente molto piccola e bisogna confermare questo dato in una popolazione di numerosità maggiore.

La correlazione significativa tra il cambiamento del tempo del ciclo del passo durante il doppio compito e la media generale della SAI suggerisce che i soggetti con minore attività colinergica corticale tendevano ad avere un maggiore aumento del tempo del ciclo del passo, cioè, camminavano più lentamente.

SAI è una misura che riflette l'inibizione corticale di breve latenza, e la sua riduzione nei pazienti con Parkinson suggerisce una compromissione dei circuiti colinergici. L'importanza di SAI risiede nel fatto che rappresenta un'integrazione delle informazioni somatosensoriali con il controllo motorio, un processo che è essenziale per il mantenimento dell'automaticità nel cammino. Una riduzione dell'SAI indica una minore capacità del sistema nervoso centrale di utilizzare queste informazioni per modulare l'attività motoria in modo efficiente, obbligando i pazienti a ricorrere a meccanismi attentivi compensatori.

Infine, l'analisi di regressione lineare ha mostrato che l'associazione significativa tra la media generale della SAI e il cambiamento del tempo del ciclo del passo indotto dal doppio compito è rimasta significativa anche dopo l'aggiustamento per l'età, che risulta peraltro un predittore significativo del cambiamento della performance del cammino in doppio compito.

In conclusione, i nostri dati preliminari suggeriscono che l'attività colinergica nella malattia di Parkinson possa essere un buon marcatore della patologia stessa, ma non della sua evoluzione nel tempo e nel sotto classificare pazienti ad eziologia differente.

9.BIBLIOGRAFIA

Alcalay RN, et al. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain* 2015 Sep;138:2648-2658.

Alexandra Sailer, Gregory F. Molnar, Guillermo Paradiso, Carolyn A. Gunraj, Anthony E. Lang, Robert Chen, Short and long latency afferent inhibition in Parkinson's disease, *Brain*, Volume 126, Issue 8, August 2003

Beavan M, et al. Evolution of prodromal clinical markers of Parkinson disease in a GBA mutation-positive cohort. *JAMA Neurol* 2015 Feb;72:201-208.

Benussi A, et al. Neurophysiological Correlates of Motor and Cognitive Dysfunction in Prodromal and Overt Dementia with Lewy Bodies. *J Alzheimers Dis* 2022;86:579-588.

Beutler E, et al. Gaucher disease: gene frequencies in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet* 1993 Jan;52:85-88.

Bohnen NI, Yarnall AJ, Weil RS, Moro E, Moehle MS, Borghammer P, Bedard MA, Albin RL. Cholinergic system changes in Parkinson's disease: emerging therapeutic approaches. *Lancet Neurol*. 2022 Apr;21(4):381-392

Bonni S, et al. Real-time activation of central cholinergic circuits during recognition memory. *Eur J Neurosci* 2017 Jun; 45:1485-1489.

Botta A, et al. Sensorimotor inhibition during emotional processing. *Sci Rep* 2022 Apr 29;12:6998.

Brenner RP, et al. EEG spectral findings in healthy, elderly men and women--sex differences. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995 Jan;94:1-5.

Caminiti SP, et al. Clinical and Dopamine Transporter Imaging Trajectories in a Cohort of Parkinson's Disease Patients with GBA Mutations. *Mov Disord* 2022 Jan;37:106-118.

Caviness JN, et al. Cortical phosphorylated alpha-Synuclein levels correlate with brain wave spectra in Parkinson's

Caviness JN, et al. Differential spectral quantitative electroencephalography patterns between control and Parkinson's disease cohorts. *Eur J Neurol* 2016 Feb;23:387-392.

Caviness JN, et al. Longitudinal EEG changes correlate with cognitive measure deterioration in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* 2015;5:117-124.

Choudhury S, Siddique U, Rahman S, Kumar Y, Banerjee S, Baker MR, Baker SN, Kumar H. Short-Latency Afferent Inhibition Correlates with Stage of Disease in Parkinson's Patients. *Can J Neurol Sci*. 2023 Jul;50(4):579-583.
disease. *Mov Disord* 2016 Jul;31:1012-1019.

Gan-Or Z, et al. Differential effects of severe vs mild GBA mutations on PD. *Neurology* 2015 3;84:880-887.

Geraedts VJ, et al. Quantitative EEG reflects non-dopaminergic disease severity in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol* 2018 Aug;129:1748-1755.

Goetz CG, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord* 2008 15;23:2129-2170.

Guo Y, et al. Predictors of cognitive impairment in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *J Neurol* 2021 Aug;268:2713-2722.

Hallett M. Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron*. 2007 Jul 19;55(2):187-99.

He X, et al. The patterns of EEG changes in early-onset Parkinson's disease patients. *Int J Neurosci* 2017 Nov;127:1028-1035.

Isella V, et al. Diagnosis of possible mild cognitive impairment in Parkinson's disease: validity of the SCOPA-Cog. *Parkinsonism Relat Disord* 2013 Dec;19:1160-1163.

Jost ST, Kaldenbach MA, Antonini A, Martinez-Martin P, Timmermann L, Odin P, Katzenschlager R, Borgohain R, Fasano A, Stocchi F, Hattori N, Kukkle PL, Rodríguez-Violante M, Falup-Pecurariu C, Schade S, Petry-Schmelzer JN, Metta V, Weintraub D, Deuschl G, Espay AJ, Tan EK, Bhidayasiri R, Fung VSC, Cardoso F, Trenkwalder C, Jenner P, Ray Chaudhuri K, Dafsari HS; International Parkinson and Movement Disorders Society Non-Motor Parkinson Disease Study Group. Levodopa Dose Equivalency in Parkinson's Disease: Updated Systematic Review and Proposals. *Mov Disord*. 2023 Jul;38(7):1236-1252.

Kozlovski T, et al. Hierarchical Data-Driven Analysis of Clinical Symptoms Among Patients With Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2019;10:531.

Martini DN, et al. Sensorimotor Inhibition and Mobility in Genetic Subgroups of Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2020;11:893.

Mirelman A, et al. Effects of Aging on Arm Swing during Gait: The Role of Gait

Mollenhauer B, et al. Longitudinal analyses of cerebrospinal fluid alpha-Synuclein in prodromal and early Parkinson's disease. *Mov Disord* 2019 Sep;34:1354-1364.

Nasreddine ZS, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 2005 Apr;53:695-699.

Olde Dubbelink KT, et al. Cognitive decline in Parkinson's disease is associated with slowing of resting-state brain activity: a longitudinal study. *Neurobiol Aging* 2013 Feb;34:408-418.

Pascual-Leone A, Walsh V, Rothwell J. Transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience--virtual lesion, chronometry, and functional connectivity. *Curr Opin Neurobiol.* 2000 Apr;10(2):232-7.

Pelosin E, et al. Attentional Control of Gait and Falls: Is Cholinergic Dysfunction a Common Substrate in the Elderly and Parkinson's Disease? *Front Aging Neurosci* 2016;8:104.

Petrucci S, et al. GBA-Related Parkinson's Disease: Dissection of Genotype-Phenotype Correlates in a Large Italian Cohort. *Mov Disord* 2020 Nov;35:2106-2111.

Physiol 2000 Mar 1;523 Pt 2:503-513.

Postuma RB, et al. MDS clinical diagnostic criteria for PD. *Mov Disord* 2015 Oct;30:1591-1601.

Rochester L, Yarnall AJ, Baker MR, David RV, Lord S, Galna B, Burn DJ. Cholinergic dysfunction contributes to gait disturbance in early Parkinson's disease. *Brain.* 2012 Sep;135(Pt 9):2779-88. doi: 2008 Movement Disorder Society.

Sanchez-Cubillo I, et al. Construct validity of the Trail Making Test: role of task-switching, working memory, inhibition/interference control, and visuomotor abilities. *J Int Neuropsychol Soc* 2009 May;15:438-450.

Schejter-Margalit T, et al. Quantitative digital clock drawing test as a sensitive tool to detect subtle cognitive impairments in early stage Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2021 Sep;90:84-89.

Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav Brain Res.* 2011 Aug 10;221(2):555-63

Siebner HR, Funke K, Aberra AS, Antal A, Bestmann S, Chen R, Classen J, Davare M, Di Lazzaro V, Fox PT, Hallett M, Karabanov AN, Kesselheim J, Beck MM, Koch G, Liebetanz D, Meunier S, Miniussi C, Paulus W, Peterchev AV, Popa T, Ridding MC, Thielscher A, Ziemann U, Rothwell JC, Ugawa Y. Transcranial magnetic stimulation of the brain: What is stimulated? - A consensus and critical position paper. *Clin Neurophysiol.* 2022 Aug;140:59-97. Speed and Dual Tasking. *PLoS One* 2015;10:e0136043.

Thaler A, et al. Parkinson's disease phenotype is influenced by the severity of the mutations in the GBA gene. *Parkinsonism Relat Disord* 2018 Oct;55:45-49.

Toepp SL, et al. The distribution and reliability of TMS-evoked short- and long-latency afferent interactions. *PLoS One* 2021;16:e0260663.

Tokimura H, et al. Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. *J*

Tomlinson CL, et al. Systematic review of levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2010 Nov 15;25:2649-2653.

Turco CV, et al. Short- and long-latency afferent inhibition; uses, mechanisms and influencing factors. *Brain Stimul* 2018 Jan;11:59-74.

Utianski RL, et al. Graph theory network function in Parkinson's disease assessed with electroencephalography. *Clin Neurophysiol* 2016 May;127:2228-2236.

Vieira SRL, Schapira AHV. Glucocerebrosidase mutations and Parkinson disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2022 Sep

Vilageliu L, Grinberg D. Involvement of Gaucher Disease Mutations in Parkinson Disease. *Curr Protein Pept Sci* 2017;18:758-764.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la mia relatrice, la Prof.ssa Avanzino Laura, per la sua disponibilità, per avermi permesso di condividere con lei il suo lavoro che ammiro e stimo moltissimo e per avermi dato l'opportunità di seguire questo progetto che ha arricchito la mia conoscenza in questo campo.

Ringrazio la mia correlatrice la correlatrice, la Dott.ssa Bonassi Gaia, per essermi sempre stata accanto durante tutto il lavoro, per avermi guidato all'apprendimento di tutte le tecniche utilizzate per questo studio e per avermi fatto lavorare in un clima più che piacevole.

Ringrazio più di tutti la Ciaccia, che non c'è più, ma fino al penultimo esame mi è sempre stata vicina col muso sui libri e non ha mai mancato la leccata portafortuna la mattina prima dell'esame.

Ringrazio la mia mamma per essere stata la persona più fondamentale in questi sei anni supportandomi sempre, sopportando i miei sbalzi d'umore, credendo sempre in me, festeggiando ogni successo ottenuto e subendo forse anche più di me l'ansia preesame.

Ringrazio il mio papà che, pur essendo lontano, ha sempre gioito dei miei traguardi ed è sempre stato orgoglioso di me.

Ringrazio i miei cugini: Benny per essermi stata vicino in ogni momento bello e difficile di questi sei anni, laia per avermi ascoltato e avermi consigliato sempre qualcosa di saggio, Giovi per le risate fin dal primo anno in cui abbiamo vissuto insieme e studiavo biologia con l'ansia di entrare a Medicina, Lavi per essere la sua Meredith Grey da ancor prima di iniziare a studiare, Ele per avermi sempre trasmesso la sua carica da vincente, Vitto per essere sempre pronta a farsi una risata, Flo e Greg per aver sempre sopportato ore di discorsi su medicina con la zia.

Ringrazio i miei zii: Gion per aver tenuto d'occhio tutte le graduatorie durante gli esami di ammissione, Ste per essere sempre stata dolce e sensibile, Cri per avere il dono incredibile di minimizzare i miei pensieri negativi, Titti per avermi sempre dato la carica e la sua ironia in ogni situazione e la zia Ba, importantissima, per aver rivissuto con me il suo percorso e con la quale ho condiviso tutto.

Ringrazio zio Piero, da sempre entusiasta delle mie scelte e per la chiamata fissa dopo ogni esame che mi riempiva di gioia e euforia.

Ringrazio zio Paolo, per essere stato con zia Cri come dei genitori e per la sua capacità di infondermi per ogni problema la convinzione di poterlo superare.

Ringrazio zia Cami e zio Ale per la fiducia e la stima sempre avuta nei miei confronti.

Ringrazio i miei nonni, perché siete una forza e un esempio da seguire.

Ringrazio tutta 2 Plaza per essere gli amici più belli che si possano desiderare, sempre pronti a festeggiare una mia vittoria e a tirarmi su il morale dopo una sconfitta e sempre presenti dalle mattinate di studio insieme alle giornate passate a ridere, siete speciali.

Ringrazio Ludo per essere fantastica da sempre e essere una sorella sulla quale ho potuto sempre contare.

Ringrazio Ale e Fra perché, anche se lontane, mi siete vicino da una vita e ci conosciamo meglio di ogni cosa.

Ringrazio Nico per essere per me come un fratello da tanti anni e per essermi stato a fianco sempre.

Ringrazio il mio fantastico gruppo di studi con Nadia, Clara, Fede, Ali, Reb e Benny per aver condiviso con me questo traguardo, per aver passato giornate con l'afa d'estate a ripetere e per avermi sempre informato su cose tecniche che io regolarmente ignoravo.

Ringrazio la mia crew di danza e le mie maestre di danza, che grazie alla condivisione di questa passione e a voi, venire a danza è sempre stato il modo migliore di rilassarmi in questi sei anni.

Infine, ringrazio di avere una famiglia e degli amici così preziosi che spero di non perdere mai. Vi adoro.