

Celebrazione della Settimana per la Cultura

4 aprile 2023

Premio Giovanni Maria Lancisi - Anno Accademico 2021-2022

Tesi di laurea: “Valutazione neurofisiologica della progressione della malattia di Parkinson” (Sintesi)

Autore: F. Aiello

Relatore: A. Berardelli

Correlatore: D. Belvisi

Introduzione

Malattia di Parkinson: definizione clinica ed epidemiologia

La malattia di Parkinson (*Parkinson's disease* - PD) è una patologia neurodegenerativa cronica^{1, 2}. È la seconda malattia neurodegenerativa dopo la malattia di Alzheimer e presenta una prevalenza dello 0,3% dell'intera popolazione italiana³. La malattia è sporadica nel 90% dei casi, mentre nel 10% risulta geneticamente determinata^{4, 5}. Il PD è caratterizzato da sintomi motori e non-motori¹, sebbene in ciascun soggetto possano essere variamente combinati tra loro, in funzione dell'endofenotipo peculiare di quell'individuo⁶.

Neuropatologia e fisiopatologia:

Da un punto di vista neuropatologico, il PD è caratterizzato dalla preminente perdita di neuroni dopaminergici a livello della pars compacta della substantia nigra (SNpc)^{1, 2}, con interessamento tuttavia anche di vie non dopaminergiche. La caratteristica istopatologica della neurodegenerazione nel PD è la presenza di corpi di Lewy e di neuriti di Lewy, risultato della deposizione di polimeri insolubili di alfa-sinucleina *misfolded* nel citoplasma neuronale ed assonale, osservata a tutti i livelli del sistema nervoso. Ciononostante, ancora non è noto quale sia il

reale *primum movens* eziologico, osservandosi anche un *overlap* dei *pattern* di deposizione tra le diverse patologie neurodegenerative. Tramite alcuni studi in vitro e in modelli animali, si è ipotizzato un meccanismo di progressione della degenerazione simil prionico. Ciò che si è messo in evidenza negli ultimi anni è il coinvolgimento della neuroinfiammazione; tuttavia il suo ruolo non è stato ancora ben definito, potendo agire sia in senso neurotrofico che in senso pro-infiammatorio¹. Nonostante ormai sia evidente come il PD sia una patologia neurodegenerativa multisistemica^{1, 6, 7}, il core neurofisiopatologico principale si identifica nel network dei gangli della base, fondamentale per l'iniziativa motoria e per il controllo della motilità volontaria, automatica e riflessa³. Sebbene i gangli della base esplicino un ruolo rilevante nel controllo motorio, essi sono implicati anche nei disturbi comportamentali, cognitivi^{8, 9}, nonché nei disturbi dell'umore. Da un punto di vista funzionale, la maggiore stazione di *input* dei gangli della base è lo striato; invece, la principale stazione di *output* si identifica nel complesso globo pallido interno (GPi) e sostanza nera pars reticulata (SNpr)⁷. Nel caso del PD sembrerebbe che il deficit di

dopamina porti ad una forte riduzione dell'*output* motorio e ad una modificazione della connettività sinaptica intrastriatale⁷. Dalle ultime evidenze si evince, tuttavia, una maggiore complessità del quadro, dato il riscontro di cambiamenti nel *pattern* di scarica e nella sincronizzazione neuronale e biemisferica che potrebbero avere un ruolo fisiopatologico nel PD^{7, 10-12}.

Ruolo delle tecniche neurofisiologiche nello studio della fisiopatologia del PD

Attraverso la stimolazione magnetica transcranica (TMS) sono state riscontrate diverse alterazioni in alcuni parametri neurofisiologici. La maggior parte degli studi effettuati con paradigmi di TMS a singolo stimolo ha dimostrato che i pazienti con PD sono caratterizzati da un'aumentata eccitabilità corticale, valutabile con la pendenza della curva input/output (I/O), ovvero la curva sigmoide che descrive l'aumento dell'ampiezza del potenziale evocato motorio (PEM) in funzione dell'aumento dell'intensità della stimolazione. Attraverso paradigmi di TMS a doppio stimolo è stata invece dimostrata un'alterazione della facilitazione ed inibizione intracorticali, espresse in termini di SICI (*short-interval intracortical inhibition*) e ICF (*intracortical facilitation*) nel PD. In particolare, nel PD si è osservata una riduzione della SICI, che si normalizzava dopo trattamento dopaminergico, tuttavia tale alterazione sarebbe da afferire ad una maggiore facilitazione piuttosto che ad una ridotta inibizione^{11, 13, 14} e rappresenterebbe un meccanismo compensatorio della bradicinesia¹¹. Sono invece presenti studi contrastanti riguardo l'alterazione dell'ICF¹¹.

Al fine, invece, di valutare la plasticità corticale, è possibile sfruttare la TMS ripetitiva (rTMS)^{15, 16}, ovvero la successione di singoli impulsi ad una determinata frequenza ed intensità, tali da modulare l'eccitabilità corticale. Uno specifico protocollo di stimolazione ripetitiva è costituito dalla *theta burst stimulation* (TBS), che può essere

erogata in modo continuo o intermittente. Si ritiene che la iTBS induca una plasticità corticale *long term potentiation-like* (LTP-like), mentre la cTBS determinerebbe una riduzione dell'eccitabilità per fenomeni *long term depression-like* (LTD-like)¹⁵: questi meccanismi di riorganizzazione sinaptica sembrerebbero mediati da *pathways* NMDA-dipendenti^{17, 18}. Diversi lavori hanno evidenziato un'alterazione della plasticità corticale LTP-like e LTD-like nei pazienti con PD^{11, 14, 19-22}, evidente già nelle fasi precoci di pazienti con PD de novo, in entrambi gli emisferi, senza differenze di severità interemisferica e non correlata con la sintomatologia motoria²². Tuttavia, i risultati non sono sempre concordi in letteratura^{13, 21}. Il ruolo comunque svolto dalla dopamina nella plasticità corticale²³⁻²⁵ e dei gangli della base (Prescott e coll., 2009) è ormai indubbio sia nel modello animale²⁶ che nell'uomo. La neurodegenerazione determina, inoltre, anche alterazioni compensatorie del *deficit* dei gangli della base (GB), quali una riorganizzazione della corteccia sensorimotoria²⁷. Nel PD è stata evidenziata anche un'alterazione del dominio sensoriale, che comprende alterazioni della sensibilità tattile, termica e dolorifica e della cinestesia²⁸, alterazioni dell'integrazione sensorimotoria^{29, 30}, nonché disordini puri della percezione cosciente, estrinsecabili in un incremento della soglia percettiva. In particolare, si è osservato un incremento dei valori della STDT (*somatosensory temporal discrimination threshold*), ovvero il minimo intervallo di tempo richiesto tra due stimoli affinché il soggetto li identifichi come distinti^{28, 29}. Si ritiene che tale parametro sia codificato dai neuroni inibitori intracorticali dell'area sensoriale primaria S1 con coinvolgimento anche dei GB²⁹, nonché di input provenienti dalla pre-SMA²⁸. L'STDT risulta ugualmente alterata sia in presenza che in assenza di tremore nel PD, è influenzata dalle concentrazioni dopaminergiche e correla con la severità clinica^{29, 31}.

Come si evince dalla letteratura, la malattia di Parkinson è estremamente eterogenea sia per quanto concerne la fenomenologia clinica che per le traiettorie di malattia. A tal fine recenti studi hanno indagato il possibile ruolo di parametri biomolecolari³²⁻⁴³, neuroradiologici^{37, 44-51} e neurofisiologici^{52, 53} come biomarcatori di progressione di malattia nei pazienti affetti da PD. Ne consegue che le alterazioni neurofisiologiche riscontrate in letteratura potrebbero potenzialmente rappresentare dei biomarcatori in tale patologia.

Scopo della tesi

Data l'assenza di terapie in grado di modificare il decorso della malattia, è fondamentale identificare biomarcatori di progressione, utili per la quantificazione degli effetti di future strategie terapeutiche volte a rallentare l'avanzare della malattia. Studi neurofisiologici hanno evidenziato la presenza di numerose alterazioni del sistema motorio e sensitivo. Tuttavia, non è noto il tempo di comparsa di tali alterazioni, cosa che permetterebbe, invece, di comprendere il ruolo dei diversi meccanismi fisiopatologici finora individuati nelle diverse fasi della malattia.

Il primo obiettivo della presente tesi è stato quello di effettuare una valutazione neurofisiologica del sistema motorio e del sistema sensitivo in un'ampia popolazione di pazienti parkinsoniani esaminati in fase iniziale (prima dell'introduzione della terapia dopaminergica) e dopo 4 anni dalla diagnosi. Ulteriore obiettivo delle tesi è stato quello di correlare tali alterazioni allo stadio di malattia, al fine di identificare possibili biomarcatori di progressione del PD.

Materiali e metodi

Soggetti

Quarantadue pazienti con PD e 45 soggetti sani hanno preso parte allo studio. I soggetti sani erano frequency-matched ai casi secondo le variabili di età e sesso.

Valutazione clinica

La valutazione clinica prevedeva la raccolta di dati relativi ad informazioni demografiche, a manifestazioni motorie (*International Parkinson and Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (MDS-UPDRS: parte II, parte III, parte IV), H&Y score) e a manifestazioni dei sintomi non-motori (MDS-UPDRS parte I; *Non-Motor Symptoms Scale* per la Malattia di Parkinson (NMSS)).

Valutazione neurofisiologica

Tecniche di stimolazione magnetica transcranica: eccitabilità e plasticità corticali

Per quanto concerne il paradigma di singolo e doppio stimolo magnetico è stato utilizzato uno stimolatore monofasico MAGSTIM 200 (MAGSTIM, Whitland, UK) connesso ad una bobina a forma di otto di 70 mm di diametro. La bobina è stata mantenuta tangenzialmente allo scalpo formando con esso un angolo di 45°. Gli stimoli magnetici sono stati erogati in corrispondenza dell'area motoria primaria (M1) del lato più affetto. È stato quindi registrato un PEM nel muscolo primo interosseo dorsale controlaterale (corrispondente all'hotspot). È stata calcolata la RMT, ovvero la minima intensità richiesta per elicitare un PEM di ampiezza picco a picco $\geq 50 \mu\text{V}$ in almeno 5 di 10 trial consecutivi. La curva input/output (I/O) è stata determinata in ciascun soggetto dalla misura dei PEM testati ad un'intensità uguale al 100%, 120% e 140% dell'RMT. Sono stati raccolti 10 PEM per ciascuna condizione in ordine randomizzato. La SICI e l'ICF sono state valutate usando un paradigma di TMS a doppio stimolo, con uno stimolo condizionante sottosoglia erogato ad un'intensità pari all'80% dell'RMT, seguito da uno stimolo test sopra soglia dell'intensità del 120% dell'RMT. L'intervallo interstimolo (ISI) tra lo stimolo condizionante e lo stimolo test è stato impostato a 3 ms per la SICI e a 10 ms per l'ICF. Dieci PEM sono stati registrati per ciascun ISI in ordine randomizzato. SICI e ICF sono stati espressi come rapporto

percentuale tra il PEM non-condizionato e il condizionato.

La stimolazione *theta-burst* intermittente (iTBS) è stata condotta utilizzando uno stimolatore SuperRapid MAGSTIM bifasico ad alta-frequenza (MAGSTIM, Whitland, UK) connesso ad una bobina a forma di otto di 70 mm di diametro, posizionata in corrispondenza dell'*hotspot* dell'FDI. Il protocollo adottato prevedeva l'erogazione di treni di stimolazione della durata di 2 s con una pausa di 8 s tra treni consecutivi (20 treni; 600 impulsi magnetici totali); ciascun treno era costituito da 10 *bursts* e ogni *burst* includeva 3 impulsi magnetici erogati alla frequenza di 50 Hz e veniva ripetuto con un intervallo di 200 ms. L'intensità di stimolazione dell'iTBS è stata impostata al 90% dell'RMT. Al fine di valutare gli effetti della iTBS, sono stati registrati 10 PEM, testati ad un'intensità pari al 120 % dell'RMT prima (T0), 5-10 (T1), 15-20 (T2), 25-30 (T3) minuti dopo iTBS. L'attività elettromiografica (EMG) è stata registrata a livello del muscolo FDI attraverso un paio di elettrodi di superficie di Ag/AgCl, posizionati secondo un montaggio ventre muscolare-tendine. Il segnale EMG è stato filtrato mediante un filtro passa banda a 10-1000 Hz, amplificato (x 1000) (Digitimer D360; Digitimer, Welwyn Garden City, UK), digitalizzato a 5 kHz (CED 1401; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) e salvato su un computer per l'analisi offline. L'ampiezza dei PEM è stata misurata picco a picco e poi ne è stata calcolata la media.

Registrazione cinematografica della performance motoria

L'analisi cinematografica è stata effettuata utilizzando il sistema SMART (BTS Engineering, Milan, Italy). Il sistema SMART è munito di tre/quattro telecamere infrarosse (frequenza di campionamento, 120 Hz) ed è stato utilizzato per registrare i movimenti di abduzione del dito indice. Il braccio era abdotto a livello della spalla di circa 45-50° e flessione a livello del gomito di circa 90°. Lo

spostamento dei *marker* durante il task è stato ricostruito mediante un *software* dedicato che attuava un algoritmo automatico, al fine di calcolare il grado di movimento (ROM- *range of motion*), ovvero lo spostamento del dito indice intorno alla sua articolazione metacarpofalangea, espresso come grado dell'angolo e velocità media (gradi/s) (BTS Engineering, Milan, Italy).

Valutazione della soglia di discriminazione temporale somatosensoriale (STDT)

La STDT è stata valutata a livello della mano del lato più affetto per mezzo di uno stimolatore elettrico di corrente costante (Digitimer DS7AH). Una coppia di stimoli tattili corrispondenti ad impulsi elettrici ad onda quadrata è stata inviata a livello della falange distale del dito indice attraverso degli elettrodi cutanei di superficie. L'intensità di stimolazione è stata definita attraverso l'erogazione di una serie di stimoli ad intensità crescenti, partendo da 2 mA ed incrementando di 0,5 mA in modo scalare. L'intensità variava in ciascun individuo, dipendendo dalla minima intensità richiesta dal soggetto per percepire 10 su 10 stimoli consecutivi. Coppie di stimoli elettrici sono state inviate partendo da un ISI di 0 ms (coppia simultanea), che veniva progressivamente incrementato di 10 ms attraverso una progressione scalare. È stata considerata come STDT a riposo il primo di tre ISI consecutivi a cui ciascun soggetto riconosceva gli stimoli come temporalmente separati in una media di 3 trial di STDT.

Tutte le procedure sperimentali sono state effettuate nel lato più affetto.

Analisi statistica

I dati sono espressi in termini di media \pm deviazione standard.

Al fine di confrontare i dati neurofisiologici tra pazienti affetti da PD e soggetti sani sono state utilizzate tecniche di analisi statistica parametrica (T test di Student e ANOVA) e non parametrica

(Kruskall Wallis test e Mann Whitney U test) in base alla distribuzione dei dati. L'analisi è stata effettuata sia per i dati ottenuti alla sessione basale (T0) che al follow up (T1).

Il coefficiente di correlazione di Spearman è stato utilizzato per indagare le possibili correlazioni tra i parametri neurofisiologici e lo stadio di malattia al T0 e al T1.

Risultati

Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti sono riportate in Tab. 1.

Confronto tra i pazienti con PD e i controlli sani al T0

Il Mann Whitney U test ha dimostrato che i pazienti avevano un'aumentata eccitabilità corticale, valutata come ampiezza del PEM, per una stimolazione pari al 100% (U=1253, Z=-3.45, p=0.0006) e 140% (U=1221, Z=-3.44, p=0.0006) della soglia motoria a riposo. Al contrario non sono state osservate differenze statisticamente significative quando veniva utilizzata un'intensità pari al 120% (U=1348, Z=-2.991, p=0.002 non significativo dopo correzione per confronti multipli) (figura 1A). Non sono state osservate differenze significative tra pazienti e controlli sia per quanto riguarda la SICI (U=1161, Z=-3.204, p=0.001 non significativo dopo correzione per confronti multipli; Fig. 1B) che l'ICF (U=1672, Z=-1.039, p=0.29; Fig. 1C). Per quanto concerne la plasticità corticale è stato osservato che i pazienti avevano una ridotta risposta all'iTBS al T2 (U=1218; Z=-3.389, p=0.0007) e T3 (U=1077, Z=-3.56, p=0.0004) ma non al T1 (U=1294, Z=-2.838, p=0.004 non significativo dopo correzioni per confronti multipli) (Fig. 1D). All'analisi cinematica della *performance* motoria è stata osservata una ridotta velocità angolare nei pazienti rispetto ai controlli (U=699, Z=-5.579, p<0.00001; Fig. 3). La funzione sensitiva, esaminata in

termini di STDT, è risultata simile nei due gruppi (U=1811, Z=-1.565; p=0.1; Fig. 2).

Confronto tra i pazienti con PD e i controlli sani al T1

Il Mann Whitney U test ha confermato che i pazienti avevano un'aumentata eccitabilità corticale, valutata come ampiezza del PEM, per una stimolazione pari al 100% (U=555, Z=-4.483, p<0.00001) e 140% (U=779, Z=-2.86, p=0.0004) della soglia motoria a riposo. Al contrario non sono state osservate differenze statisticamente significative quando veniva utilizzata un'intensità pari al 120% (U=837, Z=-2.446, p=0.01 non significativo dopo correzione per confronti multipli) (Fig. 1A). Non sono state osservate differenze significative tra pazienti e controlli per quanto riguarda l'ICF (U=1139, Z=-0.95, p=0.924; Fig. 1C) mentre la SICI, a differenza di quanto osservato al T0, era significativamente ridotta nei pazienti rispetto ai controlli (U=520, Z=-4.417, p<0.00001; Fig. 1B). Per quanto riguarda la plasticità corticale è stato osservato che i pazienti avevano una ridotta risposta all'iTBS al T1 (U=420; Z=-5.074, p<0.00001) e T2 (U=596, Z=-3.721, p<0.00001) ma non al T3 (U=694, Z=-2.707, p=0.007 non significativo dopo correzioni per confronti multipli) (Fig. 1D). All'analisi cinematica della *performance* motoria è stata confermata una ridotta velocità angolare nei pazienti rispetto ai controlli (U=526, Z=-3.745, p<0.00001; Fig. 3). A differenza di quanto osservato in fase iniziale, la funzione sensitiva è risultata alterata, come suggerito dagli aumentati valori di STDT osservati nei pazienti rispetto ai controlli (U=1139, Z=-1.704; p<0.00001; Fig. 2).

Correlazione tra i parametri neurofisiologici e lo stadio di malattia

Il coefficiente di correlazione di Spearman ha dimostrato una correlazione positiva tra l'eccitabilità corticale e il punteggio della scala di Hoehn and Yahr sia al T0 (r= 0.247; p=0.02; Fig. 4A) che al T1 (r=0.371; p=0.006; Fig. 4B).

	Pazienti T0	Pazienti T1
Età (anni)	63 ± 10	67 ± 11
Sesso maschile (%)	64 %	64 %
H & Y	1.5 ± 0.7	2.1 ± 0.5
MDS-UPDRS I	4.3 ± 4.7	8.4 ± 5.6
MDS-UPDRS II	3.2 ± 2.6	7.7 ± 7.2
MDS-UPDRS III	18 ± 10	27 ± 9
NMSS	25 ± 21	51 ± 38
MoCA	27 ± 2	25 ± 3

Tab. 1. Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti al basale (T0) e al follow-up (T1).

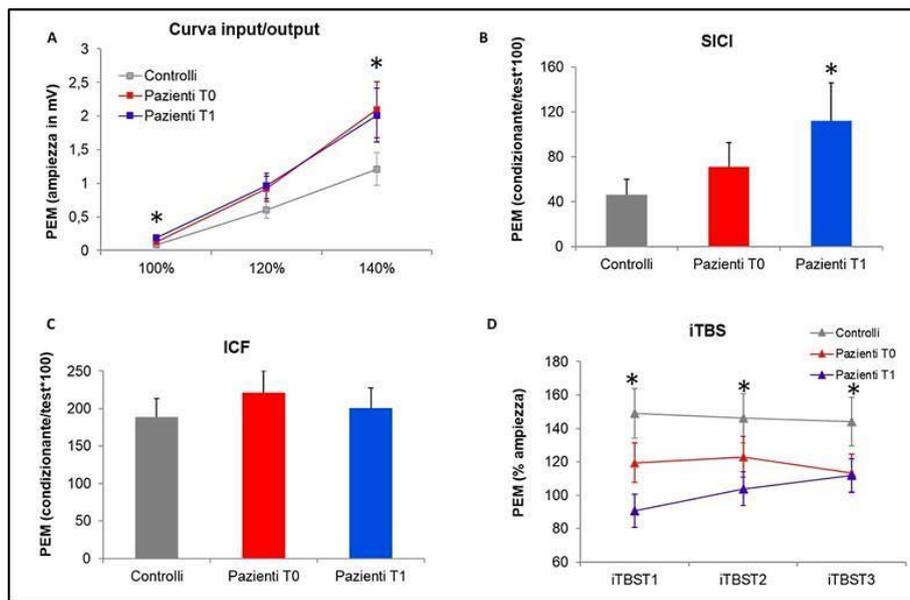


Fig. 1. Studio dell'eccitabilità e della plasticità corticali. **A)** Curva input/output al 100%, 120% e 140% della soglia motoria a riposo nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio). **B)** SICI misurata nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio). **C)** ICF misurata nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio). **D)** iTBS erogata nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio), per valutare la plasticità corticale.

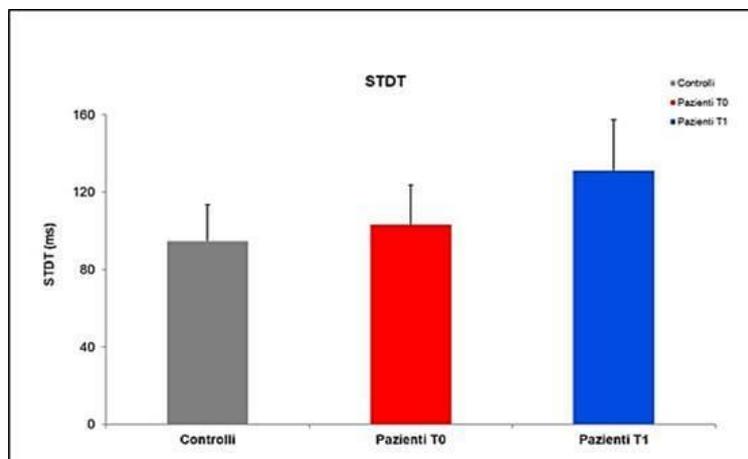


Fig. 2. Valutazione della soglia di discriminazione temporale tattile. STDT misurata nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio).

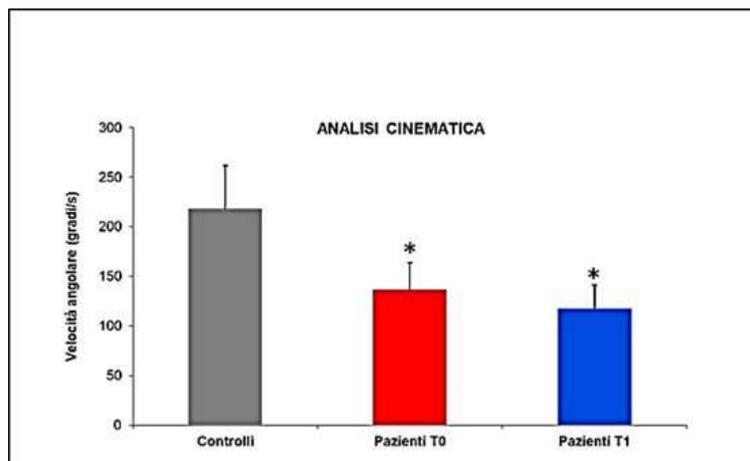


Fig. 3. Analisi cinematica della performance motoria. Analisi cinematica della performance motoria effettuata nei pazienti al basale (T0) (in rosso), al follow-up (T1) (in blu) e nei controlli (in grigio).

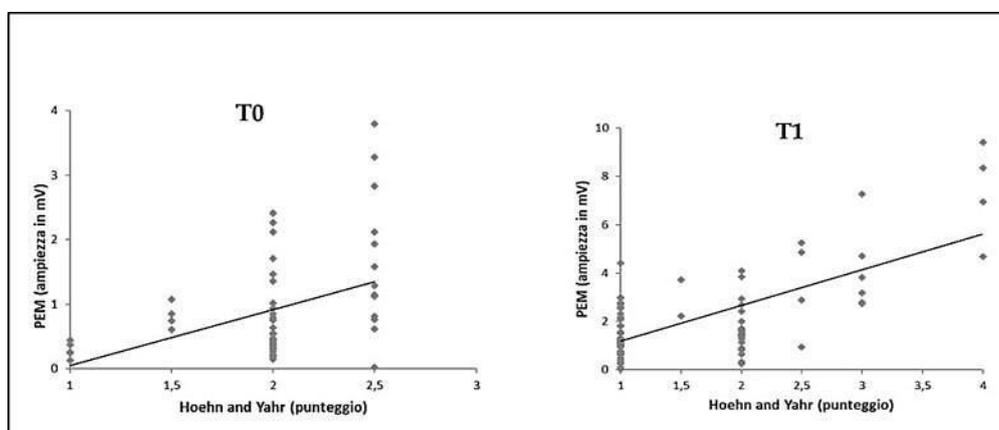


Fig. 4. Analisi di correlazione tra l'eccitabilità corticale e lo stadio di malattia. A) Analisi di correlazione tra l'eccitabilità corticale e lo stadio H&Y al basale (T0). B) Analisi di correlazione tra l'eccitabilità corticale e lo stadio H&Y al follow-up (T1).

Discussione

Il nostro studio ha dimostrato che l'aumento dell'eccitabilità corticale e la riduzione della plasticità corticale rappresentano alterazioni fisiopatologiche precoci del PD. Al contrario, le alterazioni relative ai meccanismi inibitori intra-corticali e alla discriminazione temporale tattile intervengono successivamente.

Lo studio delle correlazioni tra i parametri neurofisiologici e lo stadio di malattia ha evidenziato una correlazione positiva tra l'eccitabilità corticale e lo stadio di malattia, descritto dallo score H&Y, sia al basale che al follow-up.

Lo studio è stato condotto in una coorte omogenea per caratteristiche demografiche

e la sessione valutativa è stata inoltre condotta mentre i pazienti erano in fase *off*, dopo un wash-out di circa 12 ore. Ciò ci fa pertanto escludere sia che le differenze evidenziate siano dovute a fattori contingenti diversi dai meccanismi fisiopatologici che intercorrono nella malattia di Parkinson sia che le evidenze riscontrate possano essere determinate da un'azione in acuto del trattamento dopaminergico. Inoltre, sebbene la valutazione al basale sia stata condotta in pazienti che avevano una storia di malattia ≤ 2 anni, al follow-up sono stati esclusi tutti i pazienti che, nel corso della progressione di malattia, a seguito di una maggiore chiarezza del quadro sintomatologico, siano stati diagnosticati diversamente.

Al meglio delle nostre conoscenze, questo è il primo studio il cui obiettivo è quello di identificare i possibili biomarcatori neurofisiologici di progressione attraverso l'applicazione simultanea di diverse tecniche volte a indagare il sistema sensitivo e il sistema motorio.

In letteratura è riportato un incremento dell'eccitabilità corticale in termini di ampiezza del PEM⁵⁴⁻⁵⁷, in linea con quanto riscontrato nel presente studio. Tuttavia, il nostro lavoro ha evidenziato un'aumentata eccitabilità corticale nei pazienti con PD anche al basale, e quindi in uno stato precoce di malattia, al contrario delle evidenze riportate dal gruppo di Kojovic e coll.²⁷. L'incremento dell'eccitabilità corticale è stato interpretato come il risultato di un meccanismo di compenso alla deafferentazione dopaminergica a partenza dai GB^{14, 58, 59}. Tuttavia, l'incremento osservato dell'eccitabilità corticale potrebbe anche essere il risultato di un incremento nell'eccitabilità degli alfa-motoneuroni spinali^{57, 60}, nonché essere una conseguenza diretta della fisiopatologia della malattia di Parkinson e non un meccanismo compensatorio^{14, 58}. Inoltre, la stessa potrebbe anche derivare da una riduzione dei meccanismi inibitori⁵⁶. Tuttavia quest'ultima ipotesi sembrerebbe meno probabile, data la preservazione dei circuiti inibitori, in termini di SICI, al basale rispetto al follow-up. Per quanto concerne invece i circuiti intracorticali, il nostro riscontro di una riduzione della SICI e di un'ICF preservata è in linea con la letteratura scientifica^{13, 27, 58, 61, 62}, sebbene siano presenti evidenze discordanti¹³. La preservazione della SICI nelle fasi iniziali potrebbe essere determinata dal mancato raggiungimento di una sufficiente soglia di deplezione dopaminergica²⁷, o piuttosto dal risparmio dei circuiti inibitori nelle fasi iniziali di malattia. Studi precedenti ritenevano che la SICI non fosse alterata per una ridotta inibizione, quanto per una ridotta soglia di facilitazione^{13, 61, 62}. Tuttavia, il nostro studio

ha utilizzato uno stimolo condizionante pari all'80% dell'RMT, in accordo agli studi di Mackinnon e coll. evidenziando comunque, negli stadi moderato-avanzato di malattia, una riduzione della SICI.

Numerosi sono anche gli studi inerenti alle alterazioni della plasticità corticale nel PD^{11, 14, 19-22}, sebbene talvolta contrastanti^{13, 14}. Le evidenze riscontrate nel nostro lavoro sono in accordo con gli studi presenti in letteratura, sia per quanto concerne i tempi di comparsa dell'alterazione²², sia in termini di alterazione qualitativa riscontrata^{14, 20, 22}. Data la quantità di evidenze circa il ruolo della dopamina nei meccanismi sottesi alla plasticità corticale^{14, 23-26}, il mantenimento nel tempo dell'alterazione della stessa è compatibile con la progressione della neurodegenerazione e, quindi, con l'incremento della deplezione dopaminergica. Ciò potrebbe rappresentare anche il motivo per cui osserviamo al follow-up un'alterazione della plasticità più precoce nei *time points* rispetto al basale. Non si può escludere a priori, tuttavia, che le differenze riscontrate tra il basale e il follow-up possano essere il risultato del trattamento cronico dopaminergico. Per quanto riguarda l'STDT, inoltre, il dato da noi riscontrato è in linea con quanto riportato in letteratura^{28, 29, 31}. È interessante sottolineare come il gruppo di Conte e coll.³¹ ha evidenziato, sebbene in una piccola coorte di pazienti *de novo*, una preservazione dell'STDT ad un follow-up di due anni. Ne consegue che l'incremento osservato dell'STDT sembra compaia dopo un minimo di tre anni di malattia. Ciò fornisce supporto all'ipotesi secondo cui l'alterazione dell'STDT sia influenzata dai livelli di deplezione dopaminergica, ma tuttavia risieda primariamente in un'alterazione della corteccia somatosensoriale primaria (S1), che potrebbe dipendere sia da un'alterazione diretta, o più probabilmente essere secondaria ad un alterato *output* dai GB^{29, 31}.

Infine, per quanto concerne l'analisi cinematica, la presenza di bradicinesia già

all'esordio di malattia è comunque attesa⁶³⁻⁶⁶, essendo uno dei sintomi cardine per la definizione diagnostica del PD^{67, 68}.

Dallo studio longitudinale di tale coorte di pazienti possiamo quindi osservare come i parametri neurofisiologici che dalla letteratura sono correlati ai livelli di dopamina, ovvero l'eccitabilità e la plasticità corticali, così come la performance motoria, risultano alterati sin dalle fasi precoci di malattia. Tuttavia, l'evidenza di una coesistenza di alterazioni nell'eccitabilità e nella plasticità corticali ad entrambi i *time points* non fa escludere l'ipotesi che le alterazioni nella plasticità possano essere influenzate dalle alterazioni nell'eccitabilità interneurale a livello corticostriatale¹⁴, così come non si può escludere che la bradicinesia possa essere il risultato sia della deplezione dopaminergica stessa che della plasticità disfunzionale corticostriatale. Infatti, già uno studio precedente aveva riscontrato una correlazione tra l'eccitabilità corticale e l'ipocinesia, nonché tra la plasticità corticale e l'effetto sequenza⁵⁸. Il presente studio ha inoltre messo in evidenza una correlazione positiva tra l'eccitabilità corticale e lo stadio di malattia, presupponendo, quindi, la possibilità che l'eccitabilità corticale possa divenire in futuro un possibile biomarcatore di progressione di malattia.

Al contrario, i parametri neurofisiologici che sono più direttamente correlati ai circuiti inibitori intracorticali GABA-ergici^{15, 31}, ovvero l'STDT e la SICI, risultano alterati esclusivamente al follow-up. Alcuni studi precedenti hanno già osservato una correlazione della SICI con gli stadi avanzati di malattia⁶¹, suggerendo che nelle fasi iniziali i circuiti inibitori siano preservati. Ne consegue dunque che anche la SICI e l'STDT potrebbero divenire in futuro dei biomarcatori di progressione di malattia. Tuttavia, un'altra possibile ipotesi potrebbe essere che con l'avanzare della neurodegenerazione si incentivino l'iperattivazione delle aree prefrontali come meccanismo compensatorio

alla deafferentazione dai GB^{61, 69}, portando di conseguenza ad un aumento della facilitazione a livello della corteccia motoria primaria⁶¹. Tuttavia, le evidenze riscontrate dal gruppo di Ni e coll.⁶² suggeriscono comunque la presenza di una minima alterazione anche dei circuiti inibitori gabaergici che mediano la SICI.

Il nostro studio ha tuttavia dei limiti. In particolare, la valutazione cinematica non è ottimale a seguito di un ridotto numero di tracce congrue per l'analisi *offline*. Inoltre, la limitazione nel numero dei pazienti arruolati per il follow-up non ha permesso di discriminare longitudinalmente le alterazioni neurofisiologiche tra i diversi sottotipi di pazienti. Ne consegue che studi futuri saranno necessari per valutare se la progressione in termini di eccitabilità e plasticità corticali, SICI e STDT e bradicinesia si differenzi nei diversi *cluster*, potendo delineare quindi differenti traiettorie di malattia per ciascun *cluster*, o se invece con la progressione di malattia si perda la sottotipizzazione, portando ad un'omologazione nella traiettoria di malattia.

Conclusioni

Il presente studio ha riscontrato una correlazione positiva tra l'eccitabilità corticale e lo stadio H&Y di malattia, prefigurando la possibilità che essa possa delinarsi come biomarcatore di progressione, essendo un parametro misurabile non soggetto ad apprendimento motorio, e la cui valutazione richiede poca collaborazione da parte del paziente; in aggiunta, non è influenzato dalla risposta motoria e verbale dello stesso, le quali risultano alterate nel PD. Inoltre, questo lavoro ha anche evidenziato come sia l'STDT che la SICI siano dei parametri che si alterano solo tardivamente nel PD, potendo anch'essi divenire dei possibili biomarcatori.

BIBLIOGRAFIA

1. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. The Lancet 2015; 386: 896-912.

2. Ehringer H, Hornykiewicz O. Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system. *Parkinsonism & Related Disorders* 1998; 4: 53-7.
3. Fabbrini G., Colosimo C., Berardelli A. Disturbi del movimento. In: Berardelli A., Cruccu G., eds. *La Neurologia della Sapienza*. Bologna: Esculapio, 2019; p. 321-3.
4. Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB. The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2020; 19: 170-8.
5. Nalls MA, Blauwendraat C, Vallerga CL, et al. Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-genome wide association study. *Lancet Neurol* 2019; 18: 1091-102.
6. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci* 2017; 18: 435-50.
7. McGregor MM, Nelson AB. Circuit Mechanisms of Parkinson's Disease. *Neuron* 2019;101: 1042-56.
8. Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Stamelou M, Bhatia KP, Burn DJ. The expanding universe of disorders of the basal ganglia. *Lancet* 2014; 384: 523-31.
9. Philippe Remy, Yves Samson. The role of dopamine in cognition: evidence from functional imaging studies. *Curr Opin Neurol* 2003;16: S37-41.
10. Wichmann T. Changing views of the pathophysiology of Parkinsonism. *Mov Disord* 2019; 34: 1130-43.
11. Kaviraja Udupa, Robert Chen. Motor cortical circuits in Parkinson disease and dystonia. *Handbook Clinical Neurology* 2019; 161: 167-86.
12. Bologna M, Paparella G, Fasano A, Hallett M, Berardelli A. Evolving concepts on bradykinesia. *Brain* 2019; 143: 727-50.
13. Latorre A, Rocchi L, Berardelli A, Bhatia KP, Rothwell JC. The interindividual variability of transcranial magnetic stimulation effects: Implications for diagnostic use in movement disorders. *Mov Disord* 2019; 34: 936-49.
14. Bologna M, Suppa A, Conte A, Latorre A, Rothwell JC, Berardelli A. Are studies of motor cortex plasticity relevant in human patients with Parkinson's disease? *Clin Neurophysiol* 2016; 127: 50-9.
15. Rossini PM, Burke D, Chen R, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol* 2015; 126: 1071-107.
16. Huang Y-Z, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC. Theta Burst Stimulation of the Human Motor Cortex. *Neuron* 2005; 45: 201-6.
17. Huang Y-Z, Chen R-S, Rothwell JC, Wen H-Y. The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. *Clin Neurophysiol* 2007; 118: 1028-32.
18. J.T.H. Teo, O.B. Swayne, J.C. Rothwell. Further evidence for NMDA-dependence of the after-effects of human theta burst stimulation. *Clin Neurophysiol* 2007; 118: 1648-51.
19. Eggers C, Fink GR, Nowak DA. Theta burst stimulation over the primary motor cortex does not induce cortical plasticity in Parkinson's disease. *J Neurol* 2010; 257: 1669-74.
20. Suppa A, Marsili L, Belvisi D, et al. Lack of LTP-like plasticity in primary motor cortex in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2011; 227: 296-301.
21. Bologna M, Conte A, Suppa A, Berardelli A. Motor cortex plasticity in Parkinson's disease: Advances and controversies. *Clin Neurophysiol* 2012; 123: 640-1.
22. Kishore A, Joseph T, Velayudhan B, Popa T, Meunier S. Early, severe and bilateral loss of LTP and LTD-like plasticity in motor cortex (M1) in de novo Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol* 2012; 123: 822-8.
23. Tseng K-Y, O'Donnell P. Dopamine Modulation of Prefrontal Cortical Interneurons Changes during Adolescence. *Cereb Cortex* 2007; 17: 1235-40.
24. Huang Y-Z, Rothwell JC, Lu C-S, Chuang W-L, Chen R-S. Abnormal bidirectional plasticity-like effects in Parkinson's disease. *Brain* 2011; 134: 2312-20.
25. Wang J. D1 Dopamine Receptors Potentiate NMDA-mediated Excitability Increase in Layer V Prefrontal Cortical Pyramidal Neurons. *Cereb Cortex* 2001; 11: 452-62.
26. Molina-Luna K, Pekanovic A, Röhrich S, et al. Dopamine in Motor Cortex Is Necessary for Skill Learning and Synaptic Plasticity. *PLoS One* 2009; 4: e7082.
27. Kojovic M, Bologna M, Kassavetis P, et al. Functional reorganization of sensorimotor

- cortex in early Parkinson disease. *Neurology* 2012; 78: 1441-8.
28. Conte A, Khan N, Defazio G, Rothwell JC, Berardelli A. Pathophysiology of somatosensory abnormalities in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 2013; 9: 687-97.
 29. Conte A, Ferrazzano G, Belvisi D, et al. Somatosensory temporal discrimination in Parkinson's disease, dystonia and essential tremor: Pathophysiological and clinical implications. *Clin Neurophysiol* 2018; 129: 1849-53.
 30. Conte A, Belvisi D, Tartaglia M, et al. Abnormal Temporal Coupling of Tactile Perception and Motor Action in Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2017; 8: 249.
 31. Conte A, Leodori G, Ferrazzano G, et al. Somatosensory temporal discrimination threshold in Parkinson's disease parallels disease severity and duration. *Clin Neurophysiol* 2016; 127: 2985-9.
 32. Vivacqua G, Latorre A, Suppa A, et al. Abnormal Salivary Total and Oligomeric Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease. *PLoS One* 2016; 11: e0151156.
 33. Vivacqua G, Suppa A, Mancinelli R, et al. Salivary alpha-synuclein in the diagnosis of Parkinson's disease and Progressive Supranuclear Palsy. *Parkinsonism Relat Disord* 2019; 63: 143-8.
 34. Devic I, Hwang H, Edgar JS, et al. Salivary α -synuclein and DJ-1: potential biomarkers for Parkinson's disease. *Brain* 2011; 134: e178-e178.
 35. Kang W, Chen W, Yang Q, et al. Salivary total α -synuclein, oligomeric α -synuclein and SNCA variants in Parkinson's disease patients. *Sci Rep* 2016; 6: 28143.
 36. Cressatti M, Juwara L, Galindez JM, et al. Salivary microR-153 and microR-223 Levels as Potential Diagnostic Biomarkers of Idiopathic Parkinson's Disease. *Mov Disord* 2020; 35: 468-77.
 37. Bäckström D, Linder J, Jakobson Mo S, et al. NfL as a biomarker for neurodegeneration and survival in Parkinson disease. *Neurology* 2020; 95: e827-38.
 38. Brockmann K, Schulte C, Schneiderhan-Marra N, et al. Inflammatory profile discriminates clinical subtypes in LRRK2-associated Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2017; 24: 427-e6.
 39. Mollenhauer B, Dakna M, Kruse N, et al. Validation of Serum Neurofilament Light Chain as a Biomarker of Parkinson's Disease Progression. *Mov Disord* 2020; 35: 1999-2008.
 40. Vieira SRL, Toffoli M, Campbell P, Schapira AHV. Biofluid Biomarkers in Parkinson's Disease: Clarity Amid Controversy. *Mov Disord* 2020; 35: 1128-33.
 41. Yilmaz R, Strafella AP, Bernard A, et al. Serum Inflammatory Profile for the Discrimination of Clinical Subtypes in Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2018; 9: 1123.
 42. Sanjari Moghaddam H, Ghazi Sherbaf F, Mojtahed Zadeh M, Ashraf-Ganjouei A, Aarabi MH. Association Between Peripheral Inflammation and DATSCAN Data of the Striatal Nuclei in Different Motor Subtypes of Parkinson Disease. *Front Neurol* 2018; 9: 234.
 43. Zetterberg H. Is There a Value of Neurofilament Light as a Biomarker for Neurodegeneration in Parkinson's Disease? *Mov Disord* 2020; 35: 1111-2.
 44. Sampedro F, Martínez-Horta S, Marín-Lahoz J, Pagonabarraga J, Kulisevsky J. Longitudinal intracortical diffusivity changes in de-novo Parkinson's disease: A promising imaging biomarker. *Parkinsonism Relat Disord* 2019; 68: 22-5.
 45. Sampedro F, Pérez-González R, Martínez-Horta S, Marín-Lahoz J, Pagonabarraga J, Kulisevsky J. Serum neurofilament light chain levels reflect cortical neurodegeneration in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2020; 74: 43-9.
 46. Burciu RG, Ofori E, Archer DB, et al. Progression marker of Parkinson's disease: a 4-year multi-site imaging study. *Brain* 2017; 140: 2183-92.
 47. Zeng Q, Guan X, Law Yan Lun JCF, et al. Longitudinal Alterations of Local Spontaneous Brain Activity in Parkinson's Disease. *Neurosci Bull* 2017; 33: 501-9.
 48. Campbell MC, Jackson JJ, Koller JM, Snyder AZ, Kotzbauer PT, Perlmutter JS. Proteinopathy and longitudinal changes in functional connectivity networks in Parkinson disease. *Neurology* 2020; 94: e718-28.
 49. Abbasi N, Fereshtehnejad S-M, Zeighami Y, Larcher KM-H, Postuma RB, Dagher A. Predicting severity and prognosis in Parkinson's disease from brain microstructure and connectivity. *NeuroImage Clin* 2020; 25: 102111.
 50. Chung SJ, Lee HS, Yoo HS, Lee YH, Lee PH, Sohn YH. Patterns of striatal dopamine

- depletion in early Parkinson disease: Prognostic relevance. *Neurology* 2020; 95: e280-90.
51. Siderowf A, Jennings D, Stern M, et al. Clinical and Imaging Progression in the PARS Cohort: Long-Term Follow-up. *Mov Disord* 2020; 35: 1550-7.
 52. Klassen BT, Hentz JG, Shill HA, et al. Quantitative EEG as a predictive biomarker for Parkinson disease dementia. *Neurology* 2011; 77: 118-24.
 53. Caviness JN, Hentz JG, Belden CM, et al. Longitudinal EEG Changes Correlate with Cognitive Measure Deterioration in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis* 2015; 5: 117-24.
 54. Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Brasil-Neto JP, Cammarota A, McShane L, Hallett M. Abnormal facilitation of the response to transcranial magnetic stimulation in patients with Parkinson's disease. *Neurology* 1994; 44: 735-41.
 55. Kojovic M, Kassavetis P, Bologna M, et al. Transcranial magnetic stimulation follow-up study in early Parkinson's disease: A decline in compensation with disease progression? *Mov Disord* 2015; 30: 1098-106.
 56. Lefaucheur J-P. Motor cortex dysfunction revealed by cortical excitability studies in Parkinson's disease: influence of antiparkinsonian treatment and cortical stimulation. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 244-53.
 57. Cantello R. Transcranial magnetic stimulation and Parkinson's disease. *Brain Res Rev* 2002; 38: 309-27.
 58. Bologna M, Guerra A, Paparella G, et al. Neurophysiological correlates of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain* 2018; 141: 2432-44.
 59. Rawji V, Latorre A, Sharma N, Rothwell JC, Rocchi L. On the Use of TMS to Investigate the Pathophysiology of Neurodegenerative Diseases. *Front Neurol* 2020; 11: 584664.
 60. Cantello R. Applications of Transcranial Magnetic Stimulation in *Mov Disord*. *J Clin Neurophysiol* 2002; 19: 272-93.
 61. MacKinnon CD, Gilley EA, Weis-McNulty A, Simuni T. Pathways mediating abnormal intracortical inhibition in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2005; 58: 516-24.
 62. Ni Z, Bahl N, Gunraj CA, Mazzella F, Chen R. Increased motor cortical facilitation and decreased inhibition in Parkinson disease. *Neurology* 2013; 80: 1746-53.
 63. Bologna M, Leodori G, Stirpe P, et al. Bradykinesia in early and advanced Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2016; 369: 286-91.
 64. Lee E, Lee JE, Yoo K, et al. Neural correlates of progressive reduction of bradykinesia in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2014; 20: 1376-81.
 65. Kang SY, Wasaka T, Shamim EA, et al. The Sequence Effect in De Novo Parkinson's Disease. *J Mov Disord* 2011; 4: 38-40.
 66. Koop MM, Shivitz N, Brontë-Stewart H. Quantitative measures of fine motor, limb, and postural bradykinesia in very early stage, untreated Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008; 23: 1262-8.
 67. Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015; 30: 1591-601.
 68. Berardelli A, Wenning GK, Antonini A, et al. EFNS/MDS-ES recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2013; 20: 16-34.
 69. Sabatini U, Boulanouar K, Fabre N, et al. Cortical motor reorganization in akinetic patients with Parkinson's disease. *Brain* 2000; 123: 394-403.
- Sintesi della Tesi di Laurea discussa il 20 giugno 2022
- Dott.ssa Flavia Aiello, Corso di laurea in Medicina e Chirurgia, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Facoltà di Farmacia e Medicina, "Sapienza" Università di Roma
- Prof. Alfredo Berardelli, Dipartimento di Neuroscienze Umane, "Sapienza" Università di Roma
- Dott. Daniele Belvisi, Dipartimento di Neuroscienze Umane, "Sapienza" Università di Roma
- Per la corrispondenza:
flavia.aiello@uniroma1.it