

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Neuroscienze

Corso di Laurea Triennale in Tecniche di Neurofisiopatologia

Presidente: Prof. A. Antonini

**EFFETTI IN ACUTO E A LUNGO TERMINE DELLA STIMOLAZIONE
CEREBRALE PROFONDA SULLA CONNETTIVITÀ FUNZIONALE NELLA
MALATTIA DI PARKINSON: UNO STUDIO EEG AD ALTA DENSITÀ**

Relatore: Prof. A. Antonini

Correlatore: Dott. A. Guerra

Laureanda: Stosic Maja

Matricola: 2054413

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

1. ABBREVIAZIONI	6
2. ABSTRACT	7
2.1 INTRODUZIONE	7
2.2 MATERIALI E METODI	7
2.3 RISULTATI	7
2.4 DISCUSSIONE	7
3. INTRODUZIONE	7
3.1 LA MALATTIA DI PARKINSON	8
3.1.1 <i>CENNI STORICI</i>	8
3.1.2 <i>EPIDEMIOLOGIA</i>	8
3.1.3 <i>EZIOLOGIA E PATOGENESI</i>	8
3.1.3.1 I nuclei della base e i circuiti cortico-basali.....	9
3.1.4 <i>FISIOPATOLOGIA</i>	10
3.1.4.1 Connettività funzionale	11
3.1.4.2 Attività oscillatoria beta	12
3.1.5 <i>CARATTERISTICHE CLINICHE</i>	13
3.1.5.1 Sintomi motori	13
3.1.5.2 Sintomi non motori	14
3.1.6 <i>DIAGNOSI</i>	15
3.1.7 <i>STADI DELLA MALATTIA</i>	16
3.1.7.1 Stadio preclinico e prodromico	17
3.1.7.2 Stadio avanzato	17
3.1.8 <i>TERAPIA</i>	17
3.1.8.1 Terapia dopaminergica	17
3.1.8.2 Terapie avanzate	18
3.2 STIMOLAZIONE CEREBRALE PROFONDA	18

3.2.1 COMPONENTI DEL SISTEMA DBS	18
3.2.2 DBS COME TRATTAMENTO DELLA MP.....	20
3.2.2.1 Criteri di selezione di pazienti con MP per il trattamento DBS.....	20
3.2.3 MECCANISMO NEUROFISIOLOGICI DELLA DBS	21
3.3 L'ELETTROENCEFALOGRAMMA (EEG).....	23
3.3.1 L'ORIGINE DEL SEGNALE	23
3.3.1.1 Ritmi cerebrali.....	23
3.3.2 SET UP DI ACQUISIZIONE	24
3.3.2.1 Il segnale EEG	25
3.3.3 HIGH-DENSITY EEG	27
3.3.4 L'EEG NELLA MP	28
4. MATERIALI.....	30
4.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO	30
4.2 POPOLAZIONE	30
4.3 REGISTRAZIONE HD-EEG.....	31
5. METODI.....	33
5.1 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.....	33
5.2 ANALISI DEI DATI	34
6. RISULTATI.....	36
6.1 DIFFERENZA NELLA FC TRA HC E PAZIENTI CON MP PRE-DBS	36
6.2 DIFFERENZA NELLA FC DEI PAZIENTI CON MP POST-DBS ALL'ACCENSIONE DBS	37
6.3 DIFFERENZA NELLA FC DEI PAZIENTI CON MP PRE- E POST-DBS	38
6.4 CORRELAZIONI CLINICO-NEUROFISIOLOGICHE	40
7. DISCUSSIONE	42
7.1 NETWORK DISFUNZIONALI NELLA MP.....	42
7.2 EFFETTI ACUTI DELLA DBS.....	44
7.3 EFFETTI CRONICI DELLA DBS	45

7.4 LIMITAZIONI DELLO STUDIO.....	46
8. CONCLUSIONI.....	48
9. BIBLIOGRAFIA	49

1. ABBREVIAZIONI

DBS: Deep Brain Stimulation

MP: malattia di Parkinson

FC: connettività funzionale

MPa: MP avanzata

NST: nucleo subtalamico

GPi: globo pallido interno

GPe: globo pallido esterno

MDS-UPDRS: *Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale*

SN: Substantia Nigra

SNA: sistema nervoso autonomo

IPG: Implantable Pulse Generator

VTA: volume tessuto attivato

HD-EEG: high-density EEG

SI: Sistema Internazionale

2. ABSTRACT

INTRODUZIONE

La stimolazione cerebrale profonda (DBS) è una tecnica neuromodulatoria utilizzata nel trattamento della malattia di Parkinson avanzata (MPa), sebbene i suoi meccanismi d'azione siano parzialmente noti. Il nostro obiettivo è valutare gli effetti della DBS sulla connettività funzionale (FC) cortico-corticale nella MPa utilizzando l'EEG ad alta densità (HD-EEG).

MATERIALI E METODI

Undici pazienti e 15 controlli sono stati sottoposti ad un HD-EEG a riposo. I pazienti sono stati valutati prima (pre-DBS) e dopo \geq sei mesi dall'impianto, con stimolazione spenta (post-DBS-OFF) ed accesa (post-DBS-ON). La FC cortico-corticale è stata analizzata alle frequenze theta, alpha, *low*-beta, *high*-beta e *low*-gamma.

RISULTATI

Rispetto ai controlli, i pazienti presentavano una riduzione della FC in alpha e un aumento in *low*-beta e *high*-beta in specifici network corticali. Dopo l'accensione della DBS (post-DBS-OFF vs. post-DBS-ON; effetto acuto), la FC in *low*-beta si riduceva e correlava con il miglioramento dei sintomi motori. A lungo termine (pre-DBS vs. post-DBS-OFF; effetto cronico), si riduceva la FC in *low*-beta e *high*-beta in specifici network e questo effetto correlava con il miglioramento delle complicanze motorie.

DISCUSSIONE

L'alterazione della FC in network alpha e beta dimostra il contributo di diversi circuiti cerebrali nella fisiopatologia della MPa.

La riduzione della FC in *low*-beta dopo l'accensione della stimolazione potrebbe riflettere i benefici acuti della DBS nel ridurre l'ipersincronizzazione patologica di specifici circuiti corticali. La riduzione della FC in *low*- e *high*-beta dopo DBS cronica potrebbe rispecchiare una riorganizzazione plastica dei network corticali sensorimotori implicati nell'effetto clinico della DBS a lungo termine.

CONCLUSIONE

La DBS determina una modulazione della connettività funzionale cortico-corticale a specifiche frequenze ed in network distinti in fase acuta e cronica, e questo contribuisce alla sua efficacia clinica.

3. INTRODUZIONE

3.1 LA MALATTIA DI PARKINSON

3.1.1 CENNI STORICI

La malattia di Parkinson (MP) è una patologia neurodegenerativa a decorso cronico progressivo caratterizzata da prevalenti sintomi motori, tra cui rigidità, lentezza dei movimenti volontari (bradicinesia), tremore a riposo e numerosi sintomi non motori. La malattia venne descritta per la prima volta dal medico inglese James Parkinson, che nel 1817, descrisse un gruppo di pazienti che si muoveva per le strade di Londra camminando lentamente, con portamento rigido e tremori regolari agli arti e al volto. Il disturbo, che ad oggi porta il suo nome, venne allora descritto come: “...*moto tremolante involontario, con forza muscolare ridotta, di parti non in azione, anche quando vengono sorrette; con propensione a piegare il tronco in avanti e a passare da un'andatura al passo alla corsa; assenza di alterazioni sensitive e dell'intelletto*” (30).

3.1.2 EPIDEMIOLOGIA

La MP è una tra le malattie neurodegenerative più comuni, seconda per prevalenza solo alla malattia di Alzheimer.

Nel 2016 circa 6,1 milioni di persone soffrivano di MP nel mondo, un dato 2,4 volte maggiore rispetto al 1990; la maggiore incidenza della malattia è stata correlata allo sviluppo di metodiche diagnostiche avanzate, alla maggiore consapevolezza da parte dei pazienti e all'invecchiamento della popolazione. L'incidenza è inferiore in soggetti sotto i 50 anni e aumenta progressivamente con l'età, raggiungendo un picco tra i 85 e 89 anni. Circa l'1-2% della popolazione con più di 65 anni soffre di MP e questa cifra aumenta al 3-5% dopo gli 85 anni. La prevalenza della MP risulta maggiore nel sesso maschile, con un rapporto tra maschi e femmine di 1,4:1,0 (2, 3).

Un'analisi *post-mortem* effettuata su pazienti affetti da MP ha riscontrato che generalmente i soggetti vivono da 6,9 a 14,3 anni dopo la diagnosi (3, 12).

3.1.3 EZIOLOGIA E PATOGENESI

La MP è considerata patologia ad eziologia multifattoriale, ovvero causata dall'interazione complessa tra multipli fattori di rischio genetici e ambientali. Sono stati descritti numerosi fattori di rischio quali il consumo di caffeina e l'esposizione a pesticidi, sebbene il ruolo di questi fattori non sia ancora del tutto chiaro (5).

La MP è caratterizzata dalla perdita di neuroni dopaminergici mesencefalici della *pars compacta* della *Substantia Nigra* (SN) e all'accumulo intraneuronale anomalo della proteina α -sinucleina, in aggregati noti come corpi di Lewy. La presenza all'esame anatomico-patologico della combinazione di questi due fattori consente di formulare la diagnosi certa di MP. Nelle fasi iniziali della malattia la degenerazione neuronale si manifesta in limitate aree cerebrali, quali la parte ventrolaterale della SN, per progredire e diventare più estesa nelle fasi avanzate. Per quanto riguarda il deposito anomalo di α -sinucleina questo si manifesta inizialmente nei neuroni del tronco cerebrale e del sistema olfattivo per poi coinvolgere anche le zone limbiche con il progredire della malattia (6).

3.1.3.1 I nuclei della base e i circuiti cortico-basali

I nuclei della base sono un gruppo di nuclei cerebrali profondi localizzati alla base dell'encefalo e comprendono lo striato (composto da caudato e putamen), il globo pallido (GP), diviso in GP interno (GPi) ed esterno (GPe), la SN composta dalla *pars compacta* e *pars reticulata* e il nucleo subtalamico (NST). I nuclei si possono classificare in input, output e nuclei intrinseci che contribuiscono al processamento e alla modulazione delle informazioni motorie. Il nucleo caudato e il putamen sono considerati nuclei input, viceversa il GPi e la SN sono nuclei output.

I gangli della base sono ampiamente connessi con la corteccia cerebrale attraverso il talamo, tramite diversi circuiti Cortico-Striato-Pallido-Talamo-Corticali paralleli e anatomicamente segregati tra loro (*Figura 1*). Questi circuiti hanno un ruolo fondamentale nel controllo dei movimenti volontari, nell'apprendimento, nella cognizione e nel controllo delle emozioni.

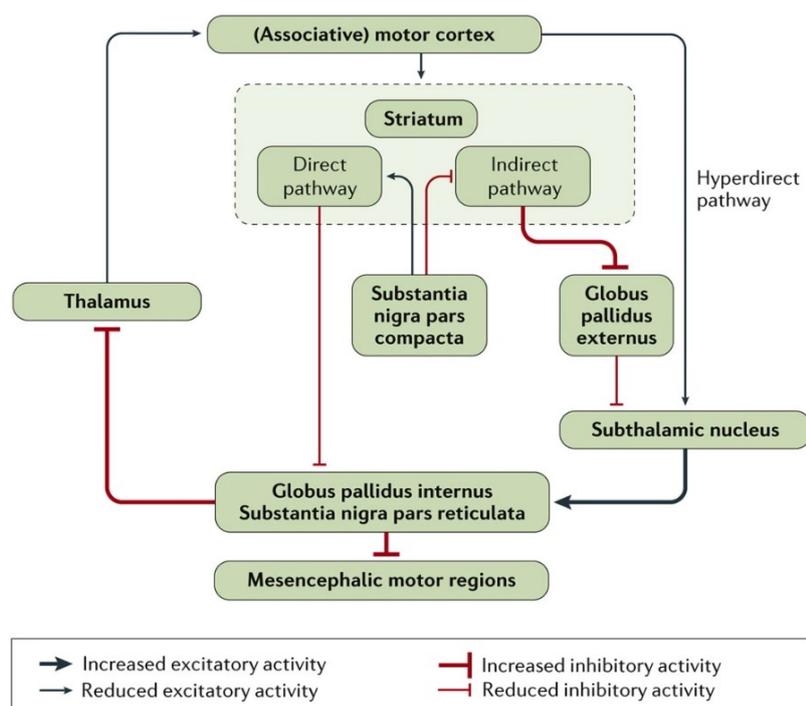


Figura 1. Cambiamento nel circuito motorio cortico-basale-talamo-corticale nella MP (6).

Nei circuiti cortico-basali, le aree corticali (corteccia motoria, premotoria e prefrontale) inviano segnali allo striato, principale area di ricezione degli input; da qui partono proiezioni verso il GP e NST. A loro volta, i due nuclei inviano proiezioni al talamo che poi rimanda il segnale alla corteccia.

Le connessioni interne ai nuclei della base possono invece essere distinte in un circuito diretto e indiretto. Per il percorso diretto si attiva la via dei neuroni dopaminergici dello striato che inviano proiezioni inibitorie al GPi e alla SN *pars reticulata* per ridurre l'inibizione talamica e favorire l'attivazione delle aree corticali motorie. Nel percorso indiretto invece, vi è una inibizione talamica per l'invio di segnali eccitatori al GPi da parte del NST, che porta ad una riduzione dell'attività corticale motoria.

La dopamina rappresenta un neurotrasmettitore fondamentale nel bilancio dell'attività tra via diretta e via indiretta. La dopamina, infatti, modula il circuito diretto e indiretto, favorendo quello diretto e quindi facilitando il movimento e il comportamento appropriato. Per questo motivo la carenza di dopamina si associa a disturbi del movimento, quali la MP (7).

Il meccanismo patologico che si osserva nella MP è il decremento nella trasmissione dopaminergica con conseguente aumento dell'attività inibitoria dei gangli della base verso il talamo, riducendo quindi il drive eccitatorio che questo esercita sulla corteccia cerebrale. Recentemente è stato introdotto un nuovo modello, chiamato "iperdiretto", che consiste in una connessione diretta tra le aree corticali motorie e il NST (pertanto definito come seconda struttura di input). Questo determina una modulazione del circuito indiretto inibendo i movimenti prematuri e ottimizzando la selezione della risposta corticale più appropriata (6).

Tuttavia, numerosi studi hanno evidenziato come il meccanismo patologico alla base della MP sia più complesso, riguardando una sincronizzazione neurale atipica e l'accoppiamento cortico-corticale in specifiche bande di frequenza (6).

3.1.4 FISIOPATOLOGIA

Studi recenti suggeriscono che i disturbi del movimento siano una conseguenza di complessi cambiamenti nell'elaborazione delle informazioni, come una sincronizzazione neurale anomala in bande di frequenza specifiche e la presenza di attività oscillatoria anomala a livello cortico-sottocorticale. Nella MP si osserva un'augmentata attività in banda di frequenza β (13-30 Hz) a livello dei nuclei della base (NST e GPi), la quale correla con la gravità dei sintomi motori e può essere attenuata da farmaci dopaminergici oppure dalla DBS (3).

Inoltre, nella MP vi è una sincronizzazione anomala tra popolazioni neuronali vicine; in condizioni fisiologiche, infatti, l'attività dei nuclei della base è organizzata e "specificata", cioè neuroni che regolano determinati movimenti corporei lavorano in modo coordinato ma isolato, evitando di coinvolgere aree neuronali vicine. Nella MP questa organizzazione viene persa e neuroni adiacenti scaricano in modo sincrono impulsi, causando una sincronizzazione anomala. Questo porta ad un controllo motorio alterato e ai sintomi tipici della malattia (3).

3.1.4.1 Connettività funzionale

Evidenze sempre più conclamate rivelano oscillazioni neurali anomale all'interno e tra diverse aree cerebrali, alle quali vengono associati specifici disturbi motori nella MP. Per questo motivo è stato introdotto l'uso di farmaci dopaminergici e metodiche quali la DBS nel trattamento della MP, che andando ad inibire l'attività oscillatoria portano a miglioramenti sintomatici del paziente (8).

Le oscillazioni neuronali si suddividono per diverse bande di frequenza, partendo dalle più lente, delta (δ , 1-4 Hz), theta (θ , 4-8 Hz), fino alle frequenze più veloci, alpha (α , 8-13 Hz), beta (β , 13-30 Hz) e gamma (γ , 30-100 Hz). Oscillazioni con frequenza β sono state osservate in strutture subcorticali, quali il GPi, SN e NST, grazie alla co-registrazione di potenziali di campo locale (*local field potentials*, LFPs). È stato inoltre dimostrato che l'attività β è direttamente correlata ai segni motori della malattia portando all'ipotesi che la carenza di dopamina causi un'eccessiva attività in banda β .

Un'attività neuronale coordinata è necessaria come conseguenza di movimenti coordinati. L'anomala sincronizzazione a livello dei gangli della base si associa ad una disfunzione di più circuiti nella MP; le frequenze oscillatorie risultano dall'interazione di gruppi neuronali interconnessi nel NST, nella SN e nella corteccia. In condizioni fisiologiche il movimento corrisponde progressivamente ad una sincronizzazione della banda β che, durante il movimento effettivo, scompare diventando attività γ , per poi ricomparire con il nome di " β rebound" e durare fino a centinaia di millisecondi. Questa coordinazione nella MP è compromessa in quanto a livello del NST vi è una dominanza delle frequenze β e α nello stato off della terapia a riposo. Infatti, l'aumento delle oscillazioni β si correla con la presenza di dopamina e con la clinica, in particolare con la bradicinesia e la rigidità. Le oscillazioni β , associate a bradicinesia e rigidità, in realtà sono diverse rispetto al tremore in termini di frequenza e area cerebrale coinvolta; finché bradicinesia e tremore riguardano attivazioni β nel NST e nel GPi, il tremore è associato a pattern oscillatori nel NST e talamo. Queste popolazioni neuronali sono funzionalmente connesse in network cortico-gangliari-talamici (8).

Tradizionalmente il fenotipo motorio della MP è stato spiegato attraverso il modello classico del circuito motorio corteccia-gangli della base, dove si sosteneva che la diminuzione di dopamina porti ad una eccessiva attività della via indiretta con conseguente effetto anti-cinetico. Tuttavia, questo modello ha numerose limitazioni e non fornisce una spiegazione esaustiva dei meccanismi neurofisiologici che stanno alla base della MP (27, 28).

Sin dalla prima descrizione della malattia come “paralisi agitante” è stato evidente che uno dei sintomi principali, il tremore a riposo, è una manifestazione fenotipica dell’attività oscillatoria di reti neuronali motorie. Successivamente, grazie alla chirurgia stereotassica in pazienti con MP, è stato possibile registrare l’attività anomala correlata al movimento, sia tramite microelettrodi intraoperatori sotto forma di attività di singola unità, che attraverso gli LFP grazie all’impianto dei macro-elettrodi DBS (27).

3.1.4.2 Attività oscillatoria beta

La prima registrazione di attività oscillatoria β è stata effettuata a livello del NST vent’anni fa e, successivamente nuovamente rilevata grazie alla registrazione dei LFP sia nel NST che nel GPi. Ad oggi è riconosciuto che le oscillazioni β del circuito cortico-gangliare nei pazienti parkinsoniani sono aumentate nello stato OFF della malattia e si riducono con l’assunzione della terapia dopaminergica (27).

Numerosi studi hanno dimostrato come l’attività β sia modulata a livello corticale e a livello dei gangli della base; in particolare prima dell’inizio di un movimento l’ampiezza dell’attività β nel cervello tende a diminuire spiegando un fenomeno noto come “*desincronizzazione evento correlata*” (*event-related desynchronization*, ERD) e successivamente, terminato il movimento, avviene un aumento dell’ampiezza β , chiamato a sua volta “*sincronizzazione evento correlata*” (*event-related synchronization*, ERS). Questi fenomeni sono osservati grazie a tecniche quali EEG e MEG sia a livello corticale (corteccia sensorimotoria) che nei gangli della base. Nei pazienti con MP, l’ampiezza di ERF registrata nel NST è diversa nei periodi di OFF e ON a causa dell’attività β più alta nello stato OFF.

Tuttavia, la modulazione dell’attività β non avviene solo in termini di ampiezza ma anche di frequenza. A livello del NST si possono registrare due bande di frequenza β in base alla loro sensibilità all’assunzione di L-Dopa: β bassa (13-20 Hz) e β alta (20-35 Hz). Nella maggior parte di pazienti con MP in fase OFF, l’attività β patologica, subisce un aumento sia nella frequenza bassa che in quella alta. Viceversa, a seguito dell’assunzione del farmaco dopaminergico si ha una diminuzione della frequenza β bassa e un aumento della β alta. Entrambe le bande β sembrano essere influenzate da

proiezioni provenienti dalla corteccia cerebrale, sebbene attraverso percorsi diversi. Infatti, l'ERD ad alte frequenze β a livello del NST è probabilmente guidato da proiezioni iper-dirette cortico-NST, mentre le oscillazioni β a bassa frequenza sono più sensibili all'assunzione dopaminergica e rappresentano l'attività del circuito cortico-striatale-GPe-NST. Di conseguenza si ipotizza che il segno patologico della MP risieda proprio nell'attività β a bassa frequenza.

3.1.5 CARATTERISTICHE CLINICHE

Dal punto di vista clinico la MP è definita dalla presenza di parkinsonismo, ovvero di lentezza dei movimenti volontari (bradicinesia) associata a rigidità e/o tremore a riposo. I sintomi motorio esordiscono solitamente dopo i 50 anni, con localizzazione unilaterale e mantenendosi asimmetrici per tutto il corso della malattia. Tuttavia, la MP è caratterizzata da numerosi sintomi non motori (SNM) che in alcuni casi possono precedere l'insorgenza dei segni motori classici di anni o addirittura decenni. I sintomi non motori assumono sempre più importanza con l'avanzare della malattia in termini di qualità di vita, autonomia, indipendenza e progressione della disabilità (6).

3.1.5.1 Sintomi motori

Sono stati individuati quattro segni principali che caratterizzano la MP: la bradicinesia, il tremore a riposo, la rigidità e l'instabilità posturale. A questi si possono aggiungere altri sintomi motori, come le anomalie della deambulazione, il blocco motorio della marcia (freezing) e le anomalie posturali (come la camptocormia) (9).

La bradicinesia si definisce come lentezza del movimento e comprende difficoltà nella preparazione, inizio ed esecuzione di movimenti o di compiti sequenziali e simultanei. Il sintomo si manifesta inizialmente con lentezza in attività della vita quotidiana (es., vestirsi, manovrare utensili) e con aumento dei tempi di reazione; può essere accompagnato anche a riduzione di gesti spontanei, salivazione eccessiva che porta a problemi nella deglutizione, ipoacusia, ipomimia (perdita di espressioni facciali) e rigidità durante la camminata. La bradicinesia viene valutata primariamente durante l'esame obiettivo neurologico chiedendo al paziente di eseguire movimenti rapidi e stereotipati quali tapping delle dita della mano, prono-supinazione delle mani e battuta a terra di talloni, considerando sia la lentezza che la diminuzione d'ampiezza del movimento (9).

Il tremore a riposo è il sintomo motorio più evidente della MP; solitamente è unilaterale, con frequenza di oscillazione tra i 4-6 Hz e diffusione prossimo-distale agli arti. Può coinvolgere anche altre parti del corpo quali bocca, mento, mascella e raramente, a differenza del tremore essenziale, collo/testa e voce. Una caratteristica del tremore a riposo è la sua diminuzione, o scomparsa, durante l'esecuzione di un task o durante il sonno; alcuni pazienti possono lamentare una sensazione di

“tremore interno” che non è visibile dall’esaminatore. In aggiunta al tremore a riposo ci sono altre due forme di tremore associate alla malattia, ovvero il tremore posturale e cinetico. Il primo si manifesta durante il mantenimento della postura mentre il secondo appare nell’esecuzione di movimenti volontari (9).

La rigidità è caratterizzata da resistenza durante il movimento passivo di un arto (flessione, estensione o rotazione). Può presentarsi prossimalmente, collo, spalle e fianchi, o distalmente a polsi e caviglie. Il sintomo è solitamente accompagnato dal fenomeno del *cogwheel*, o ruota dentata, indice di ipertonia che si manifesta con la percezione di piccole scosse di arresto durante movimenti passivi di flesso-estensione di un arto (9, 10).

Il quarto sintomo caratteristico, come già evidenziato, è l’instabilità posturale che può essere categorizzata nel macrogruppo dei disturbi posturali. L’instabilità posturale solitamente si manifesta nelle fasi più avanzate della MP, dopo l’insorgenza di altre caratteristiche cliniche; insieme al fenomeno di freezing, rappresenta la causa più comune di caduta che contribuisce significativamente a rischio di fratture e necessità di sostegno quotidiano. Per essere valutata viene sottoposto il paziente al test di trazione, nel quale si spinge il soggetto in avanti o indietro considerando rispettivamente il grado di propulsione o retropulsione (9).

3.1.5.2 Sintomi non motori

Come già detto, nonostante la MP sia caratterizzato principalmente da sintomi motori, nella maggioranza dei casi si manifestano sintomi non motori (SNM) (*Figura 2*). In particolare, questi comprendono: iposomia, costipazione, disfunzioni urinaria, ipotensione ortostatica, dolore e disturbi del sonno. A differenza dei sintomi motori, i quali sono considerati conseguenza della degenerazione neuronale della SN e della conseguente diminuzione della dopamina a livello dello striato, alcuni SNM risultano dalla neurodegenerazione del sistema nervoso autonomo (SNA) e dal coinvolgimento della corteccia cerebrale.

Motor symptoms	Non-motor symptoms
Tremor, bradykinesia, rigidity, postural instability	Cognitive impairment, bradyphrenia, tip-of-the-tongue (word finding) phenomenon
Hypomimia, dysarthria, dysphagia, sialorrhoea	Depression, apathy, anhedonia, fatigue, other behavioural and psychiatric problems
Decreased arm swing, shuffling gait, festination difficulty arising from chair, turning in bed	Sensory symptoms: anosmia, ageusia, pain (shoulder, back), paresthesias
Micrographia, cutting food, feeding, hygiene, slow activities of daily living	Dysautonomia (orthostatic hypotension, constipation, urinary and sexual dysfunction, abnormal sweating, seborrhoea), weight loss
Glabellar reflex, blepharospasm, dystonia, striatal deformity, scoliosis, camptocormia	Sleep disorders (REM behaviour disorder, vivid dreams, daytime drowsiness, sleep fragmentation, restless legs syndrome)

Figura 2. Sintomi motori e non-motori nella MP (9)

Solitamente i SNM esordiscono nelle fasi precoci del MP, ed alcuni possono precedere di molti anni lo sviluppo dei sintomi motori definendo lo stato “premotorio” della MP. Con il progredire della malattia spesso diventano disabilitanti per molti pazienti (11).

3.1.6 DIAGNOSI

La diagnosi della MP è ad oggi prevalentemente clinica: si basa infatti sulla raccolta anamnestica (storia clinica del paziente) e sui reperti dell’esame neurologico. Tuttavia, la diagnosi definitiva è possibile solo dimostrando la presenza dei caratteristici corpi di Lewy all’autopsia. Clinicamente la diagnosi si basa sulla presenza di sintomi motori classici, sintomi associati e buona risposta alla L-Dopa (3, 9).

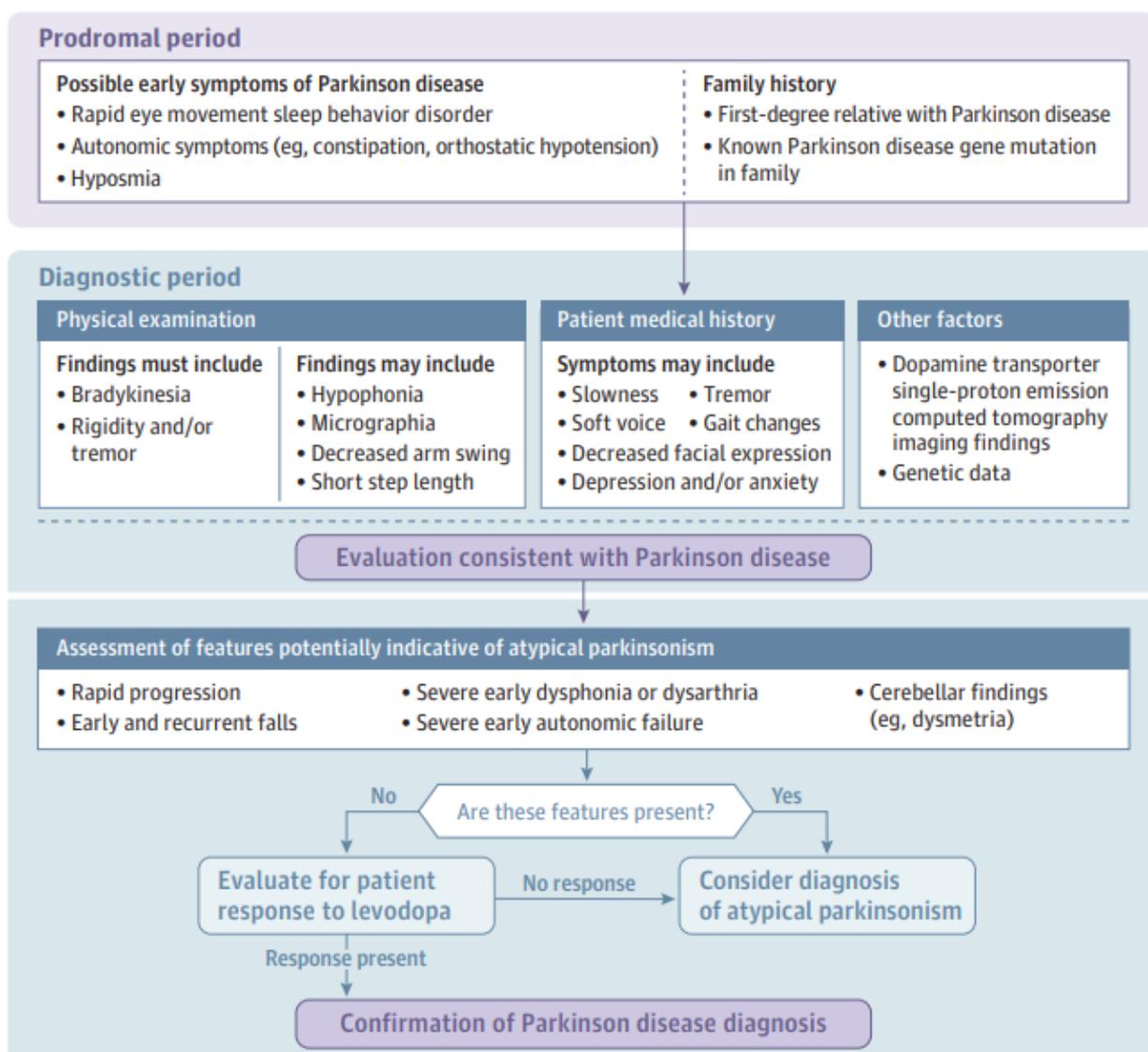


Figura 3. Approccio diagnostico alla MP (3)

Secondo i più recenti criteri diagnostici, la diagnosi di MP richiede l’evidenza di parkinsonismo definito come la presenza di bradicinesia associata a tremore a riposo e/o rigidità. Per una diagnosi

cl clinicamente stabilita, ovvero con conferma clinica ma non patologica, è necessario che vengano soddisfatti almeno due criteri su quattro: tremore a riposo, miglioramento significativo dopo assunzione di L-Dopa, presenza di discinesie indotte da L-Dopa, perdita dell'olfatto oppure positività al test di imaging per valutazione dell'assorbimento di epinefrina cardiaca (Figura 3). Durante l'iter diagnostico è importante considerare i segni e sintomi che possono essere indotti dalla terapia stessa e riconoscere gli elementi per effettuare diagnosi differenziale. Altri esami diagnostici strumentali di supporto sono la SPECT con tracciante radioattivo che si lega ai trasportatori della dopamina (DaTSCAN), la risonanza magnetica (RM) cerebrale impiegata sia a scopo diagnostico (o per diagnosi differenziale) che prognostico.

3.1.7 STADI DELLA MALATTIA

La MP si caratterizza da una significativa variabilità nell'esordio e nella progressione dei sintomi tra i pazienti. Generalmente l'esordio dei sintomi è asimmetrico e nella fase precoce i sintomi sono solitamente unilaterali e lievi senza fluttuazioni della gravità durante la giornata e hanno una risposta sostenuta al trattamento con L-Dopa. Questo periodo viene solitamente denominato *honeymoon*, (luna di miele) (Figura 4). Tuttavia, con la progressione della malattia, la progressiva degenerazione dei neuroni dopaminergici determina lo sviluppo di complicanze motorie, quali le fluttuazioni dello stato motorio e movimenti involontari (discinesie) indotti dalla L-Dopa, che possono diventare potenzialmente invalidanti e definiscono lo sviluppo della fase avanzata della MP. Pertanto, il trattamento della MP diventa più complesso e richiede spesso l'approccio a terapie avanzate (3,12).

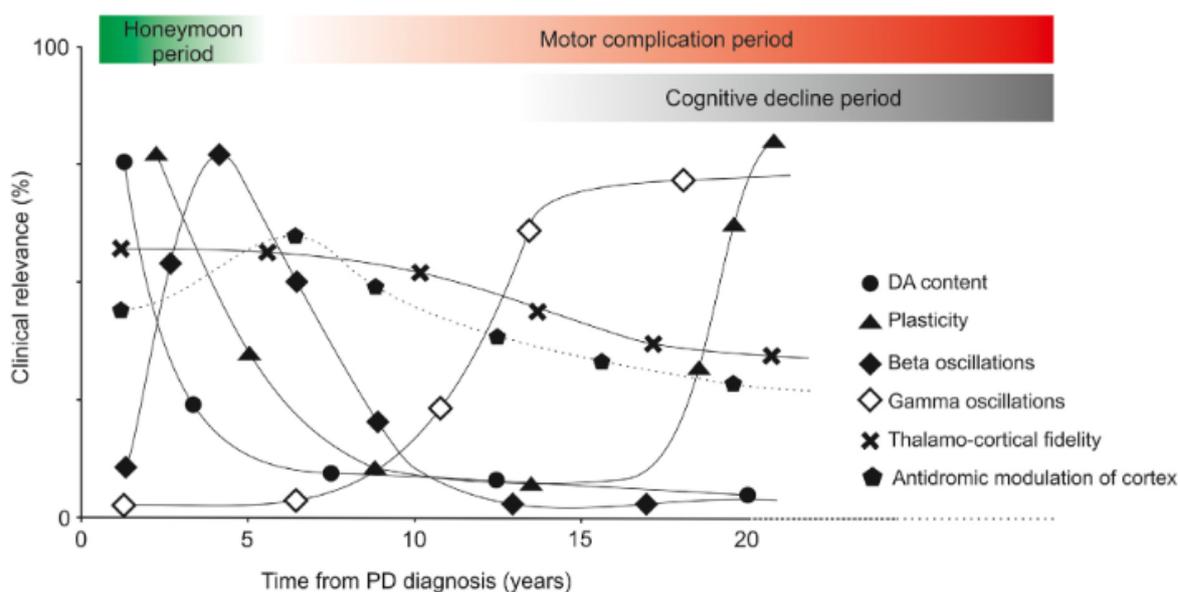


Figura 4. Timeline della progressione della MP

3.1.7.1 Stadio preclinico e prodromico

Alcuni SNM associati alla MP, quali la riduzione dell'olfatto (iposmia) e la costipazione, insorgono prima dei sintomi motori classici, caratterizzando i cosiddetti prodromi. Si ritiene che nella fase prodromica della MP, la neurodegenerazione coinvolga strutture al di fuori della SN, come il tronco encefalo inferiore, il bulbo olfattivo e il SNA. Analogamente alla malattia di Alzheimer è in fase di definizione una fase ancora più precoce, definita come MP preclinica, in cui i pazienti non presentano sintomi, ma in cui l'analisi di specifici biomarcatori può predire l'insorgenza futura della malattia (11).

3.1.7.2 Stadio avanzato

Con il progredire della malattia i sintomi motori diventano più conclamati e si assiste ad una progressiva riduzione della finestra terapeutica della L-Dopa. Nella fase avanzata della MP (MPa) possono insorgere le discinesie, movimenti involontari di tipo distonico o coreico del tronco o degli arti, correlate alla fluttuazione dei livelli intracerebrali di dopamina. Lo stadio avanzato è caratterizzato inoltre dal fenomeno della fluttuazione dei sintomi; quando la concentrazione plasmatica di dopamina è bassa il paziente si trova nella cosiddetta "fase OFF", viceversa a seguito dell'assunzione della terapia vi è la "fase ON" dove il paziente avverte beneficio da sintomi motori e SNM. Le fluttuazioni motorie solitamente si presentano dopo alcuni anni dall'inizio della terapia e aumentano con il progredire della malattia (3, 13).

È stato evidenziato come circa il 40% delle persone con MP sviluppa discinesie dopo 4-6 anni della terapia dopaminergica, in corrispondenza di livelli plasmatici alti; l'insorgenza del segno è strettamente legata alla durata complessiva della malattia e alle dosi di Levodopa assunte, piuttosto che alla durata del trattamento stesso (3).

3.1.8 TERAPIA

La terapia della MP è prevalentemente farmacologica e si basa sull'utilizzo di L-Dopa, precursore della dopamina, e altri farmaci dopaminergici. Tuttavia, è necessario adeguare il piano terapeutico ad ogni paziente in base alla risposta al trattamento, ai benefici e alla presenza di altre patologie concomitanti. Attualmente il trattamento della MP è sintomatico e non sono disponibili terapie in grado di arrestare o rallentare la progressione della malattia (3, 6, 12).

3.1.8.1 Terapia dopaminergica

La L-Dopa è considerata da decenni il *gold standard* nel trattamento della MP. Con il progredire della malattia i pazienti possono avere esigenze di dosi più elevate o a frequenza maggiore. Questo

fenomeno non è dovuto ad una perdita di efficacia del farmaco ma alla riduzione della capacità di accumulo e rilascio controllato di dopamina endogena ed esogena da parte di neuroni dopaminergici residui.

Altri farmaci utilizzati nel trattamento della MP sono gli: inibitori catecol-O-metiltransferasi e gli inibitori delle monoammino-ossidasi B (MAO-B) che bloccano gli enzimi che degradano la dopamina prolungando gli effetti della L-Dopa. Al contrario, i farmaci dopamino-agonisti agiscono tramite stimolazione diretta dei recettori dopaminergici a livello striatale. Infine, per il trattamento delle discinesie indotte da L-Dopa, si può somministrare amantadina a rilascio immediato (3, 6).

3.1.8.2 Terapie avanzate

Tuttavia, la somministrazione orale pulsata del farmaco dovuta alla sua breve emivita, alla variabilità dell'assorbimento gastrointestinale e alla ridotta capacità di accumulo e rilascio progressivo da parte dei neuroni dopaminergici con la progressione della malattia, contribuiscono alla manifestazione delle complicanze motorie. Per tale motivo sono state introdotte terapie basate sulla somministrazione continua di L-Dopa a livello intestinale o sottocutaneo tramite pompe dedicate.

Un altro importante approccio terapeutico non farmacologico è rappresentato dal trattamento chirurgico con stimolazione cerebrale profonda (*deep brain stimulation*, DBS) del NST, del GPi e del nucleo ventrale intermedio del talamo (Vim). La DBS viene utilizzata in pazienti con MP avanzato in caso di scarso controllo dei sintomi con la sola terapia farmacologica.

3.2 STIMOLAZIONE CEREBRALE PROFONDA

La DBS è una tecnica di neuromodulazione invasiva utilizzata per trattare i disturbi del movimento, tra cui la MP. La DBS è una terapia interdisciplinare basata sulla stimolazione elettrica cronica ad alta frequenza di nuclei cerebrali profondi tramite elettrodi impiantati neuro-chirurgicamente e un sistema di neurostimolazione dedicato (*Figura 5*). Il punto di svolta dell'utilizzo di tecniche di neurostimolazione come trattamento della MP è avvenuto nel 1993, quando venne approfondito lo studio sul circuito motorio dei gangli della base e identificato il NST come nuovo target della DBS, anche se la tecnica veniva già ampiamente adottata per trattare disturbi psichiatrici e altri disturbi del movimento (14,15).

3.2.1 COMPONENTI DEL SISTEMA DBS

I componenti fondamentali della DBS includono gli elettrodi intracranici, i cavi di estensione e il generatore di impulsi (*implantable pulse generator*, IPG). Gli elettrodi, di lunghezza variabile, vengono inseriti con tecnica stereotassica a livello del target prescelto, collegati tramite cavi di

estensione all'IPG posizionato a livello sottocutaneo nella parte anteriore del torace o a livello dell'addome. Appartengono al sistema esterno il programmatore per l'esaminatore, il programmatore del paziente e un dispositivo di ricarica (16).

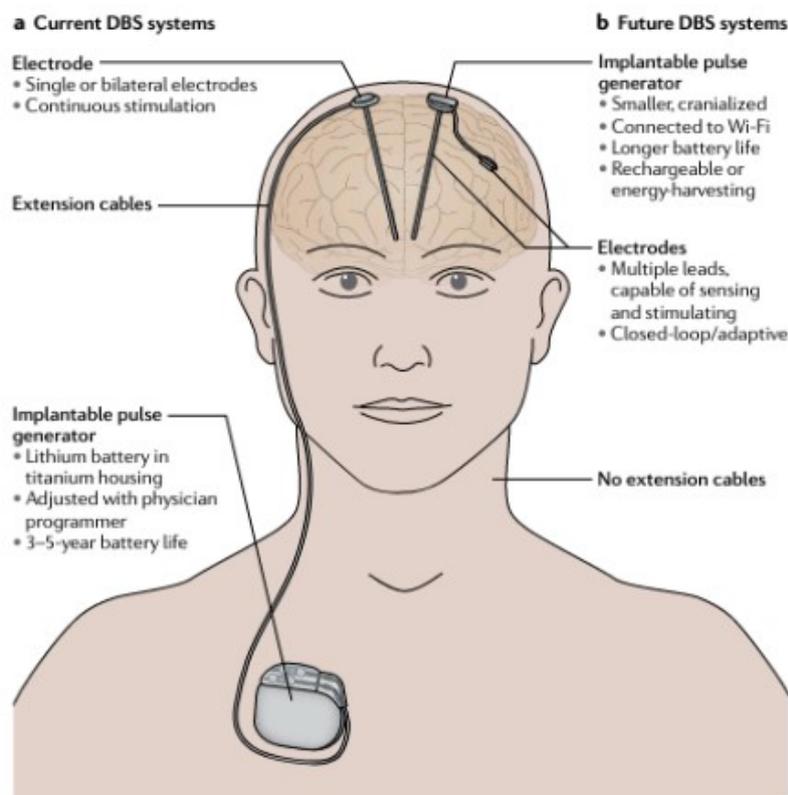


Figura 5. Componenti del sistema DBS.

Elettrodi. Il materiale che li costituisce è essenzialmente una lega di platino-iridio con connettori in lega di nichel e poliuretano. Questi materiali permettono di mantenere basse impedenze e buone proprietà elettriche durante la stimolazione, rendendo l'elettrodo adatto per l'impiego a contatto con il tessuto cerebrale. I conduttori convenzionali sono composti da 4 contatti ad anello di 1,5 mm di lunghezza e distanziati tra loro 0,5 mm, mentre l'elettrodo presenta un diametro tra 1,27 mm e 1,36 mm. Tuttavia, esistono molte varianti in commercio, selezionate e utilizzate in base all'indicazione terapeutica. Importante da considerare è anche il volume di tessuto attivato (VTA), ovvero l'area cerebrale circostante all'elettrodo che potenzialmente riceve la stimolazione erogata; il VTA dipende da numerosi fattori come la distanza dal catodo, il tipo di fibra, mielinica o amielinica, l'orientamento della fibra, il numero totale di contatti utilizzati, i parametri di stimolazione e le proprietà del tessuto stesso. Conoscere il VTA permette di determinare l'area terapeutica evitando di stimolare fibre vicine che potrebbero causare effetti indesiderati; considerando le differenze anatomiche interindividuali sono stati fatti numerosi studi per definire il VTA non solo su un piano x-y ma identificandolo anche sull'asse z. Con l'utilizzo di elettrodi segmentati è stato possibile sviluppare stimolazioni direzionate (*steering* della corrente) offrendo precisione e selettività nel VTA (16).

Generatore di impulsi (IPG). Lo stimolatore viene posizionato in una tasca sottocutanea in sede sotto-clavicolare sul torace o sull'addome. Inizialmente gli IPG erano dispositivi a singolo canale in grado di alimentare un singolo elettrodo e richiedevano quindi l'impianto di due dispositivi separati per la stimolazione bilaterale. Ad oggi vengono utilizzati IPG a doppio canale. La durata del dispositivo è strettamente correlata ai parametri di stimolazione utilizzati: con una stimolazione monopolare è necessaria meno energia rispetto alla bipolare, così come frequenze e ampiezze più alte richiedono una durata della batteria più breve. Sebbene gli IPG siano progettati per fornire la medesima *performance* indipendentemente dallo stato della batteria, è stato rilevato come dopo anni dall'impianto, quando la batteria si scarica, il dispositivo eroghi una corrente inferiore rispetto a quella stabilita con conseguente peggioramento dei sintomi del paziente. Questo ha portato allo sviluppo di sistemi ricaricabili, progettati per durare almeno 15 anni prima della necessità di sostituzione chirurgica, con un significativo miglioramento dei costi e del benessere del paziente (16).

3.2.2 DBS COME TRATTAMENTO DELLA MP

La DBS si basa sull'evidenza che la modulazione dell'attività neurale tramite stimolazione elettrica cerebrale ad alta frequenza (100-200 Hz) di strutture cerebrali specifiche può mimare un effetto lesionale senza produrre un effettivo danno cerebrale. Da allora numerosi studi hanno applicato la tecnica su pazienti affetti da MP confermando l'ipotesi iniziale dell'efficacia sui sintomi motori della DBS del NST. Generalmente il candidato ideale è un paziente affetto da MP idiopatica in fase avanzata, con eccellente risposta alla L-Dopa ma complicanze motorie invalidanti. Sono invece considerati criteri di esclusione disturbi cognitivi e comportamentali maggiori, quali la presenza di demenza, psicosi acuta e depressione maggiore. Solitamente a seguito dell'intervento la dose giornaliera di farmaci dopaminergici viene ridotta di circa il 60%, così come le discinesie e le fluttuazioni sono notevolmente ridotte del 70% nella maggior parte dei pazienti (16).

Ad oggi, il NST rappresenta il target più utilizzato a livello globale per la MP. Tuttavia, un'alternativa efficace è utilizzare come target il GPi, anche se questo comporta solitamente una riduzione meno rilevante del trattamento farmacologico e gli studi randomizzati che confrontano le due strutture hanno portato a risultati contrastanti.

3.2.2.1 Criteri di selezione di pazienti con MP per il trattamento DBS

I criteri clinici adottati per la selezione di pazienti con MPa candidabili a DBS sono i “*Core Assessment Program for Surgical Interventional Therapies in Parkinson's Disease*” (CAPSIT-PD), pubblicati nel 1999. Questi criteri sono stati progettati per facilitare e uniformare la ricerca clinica, per poi essere adottati come guida nei centri DBS in tutto il mondo per supportare la selezione dei

candidati al trattamento. Ci sono stati inoltre studi sugli effetti della DBS nel follow-up a lungo e breve termine, proponendo predittori sull'*outcome* post-intervento. I criteri di inclusione sono: diagnosi di MP idiopatico da almeno cinque anni, risposta al trattamento con L-Dopa, presenza di sintomi motori fluttuanti e assenza di disturbi cognitivi.

3.2.3 MECCANISMO NEUROFISIOLOGICI DELLA DBS

Molti studi sono stati effettuati riguardo ai meccanismi neurofisiologici della DBS, ma nonostante questo, non è ancora stata trovata una teoria che ottenga il consenso da parte degli esperti; questo ha portato all'ipotesi che il meccanismo d'azione della DBS sia multifattoriale. In particolare, tale complessità deriva dal fatto che gli effetti della stimolazione si realizzano a livello di tre ordini di grandezza: microscopico (effetti sulla modulazione dell'attività elettrica cerebrale di singoli neuroni), mesoscopico (modulazione dell'attività oscillatoria di potenziali neuronali locali) e macroscopico (modulazione di network corticali) (*Figura 6*) (26).

In particolare, la DBS ha effetti a livello microscopico tramite la modulazione dell'attività sinaptica di singoli neuroni, in quanto gli impulsi erogati attivano simultaneamente i terminali presinaptici degli assoni afferenti a livello della struttura target, portando ad una risposta neuronale che dipende dalla distribuzione degli input afferenti eccitatori ed inibitori che convergono sul bersaglio.

A livello mesoscopico, la DBS modula l'attività di popolazioni neuronali locali, registrabili come potenziali di campo locale (*local field potentials*, LFPs). Gli LFP sono il risultato di correnti presinaptiche di migliaia di neuroni situati nell'area circostante l'elettrodo. Studi eseguiti su LFP hanno rilevato la presenza di un'attività oscillatoria anomala nella banda di frequenza β (13-35 Hz) a livello del NST e del GPi e una loro correlazione con i sintomi motori parkinsoniani nello stato OFF della malattia. Sulla base dei risultati di questi studi è stato ipotizzato come la DBS agisca portando ad una soppressione dell'attività oscillatoria con conseguente riduzione dei sintomi motori (26).

Oltre alla registrazione intracranica di strutture sottocorticali è possibile rilevare anche l'attività di network cortico-corticali e cortico-sottocorticali. A tal proposito è stato dimostrato che la soppressione dell'attività β può essere registrata non solo a livello dei nuclei della base (NST o GPi) ma anche a livello dei network sensorimotori corticali. Studi con elettrocorticogramma (ECoG) ed elettroencefalogramma (EEG) hanno dimostrato che l'accoppiamento (*coupling*) di frequenze β e γ corticali sono aumentate nella MP e vengono soppresse dalla DBS. In particolare, durante la DBS si osserva che le oscillazioni in banda γ sono finemente modulate in relazione alla frequenza di stimolazione e questo suggerisce come la stimolazione influenzi l'attività cerebrali a livello corticale. Si ipotizza che l'effetto osservato sia provocato da un meccanismo di trascinamento dinamico in cui

le popolazioni neuronali, sia a livello corticale (corteccia motoria, area motoria supplementare) che sottocorticale (NST e cervelletto), si sincronizzano con la frequenza di stimolazione. Come spiegazione a questo meccanismo è stato proposto il modello Wilson-Cowan che simula la connettività neuronale tramite una inibizione ed eccitazione reciproca. Tuttavia, i fondamenti che spiegano questi effetti devono ancora essere completamente compresi (26).

Studi più recenti hanno rilevato che le oscillazioni β corticali di maggiore frequenza (21-30 Hz) raggiungono il NST dove vengono trasformate in oscillazioni β a bassa frequenza (13-20 Hz) dalle connessioni tra NST e GPe, fenomeno che si può intensificare dopo assunzione di dopamina. Tuttavia, la DBS modula la sincronia tra corteccia e NST tramite una soppressione degli input corticali, senza modificare la direzionalità del flusso di rete che segue l'orientamento anatomico del percorso iper-diretto (26).

L'effetto neurofisiologico macroscopico della DBS può essere valutato tramite tecniche in grado di acquisire l'attività globale di aree corticali estese, quali la Magnetoencefalografia (MEG) e l'EEG, di cui si tratterà nella prossima sezione.

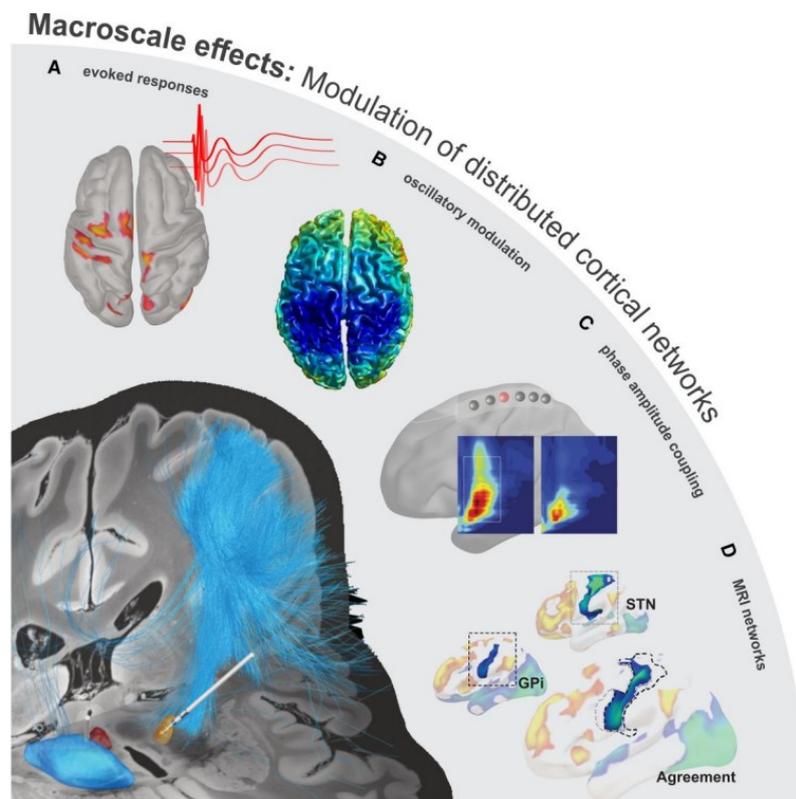


Figura 6. Effetto a livello macroscopico della DBS. **A)** induzione di potenziali evocati a breve latenza in risposta a stimolazione corticale. **B)** modulazione dell'attività oscillatoria con riduzione di attività in banda β attraverso network sensorimotorio. **C)** riduzione del coupling beta-gamma; **D)** attraverso

la RM si valutano le modifiche di connettività cerebrale in risposta alla stimolazione, che non coinvolge solo il NST e GPi ma include l'intero network ganglio-basale-talamocorticale (26).

3.3 L'ELETTROENCEFALOGRAMMA (EEG)

L'elettroencefalogramma (EEG) è una tecnica neurofisiologica non invasiva che si avvale dell'utilizzo di elettrodi posti sullo scalpo che rilevano e registrano l'attività elettrica della corteccia cerebrale. In particolare, ciò che viene registrato è la differenza di potenziale di campi elettrici tra coppie di elettrodi, che possono essere entrambi registranti (bipolare) oppure un elettrodo registrante e uno come referenza (unipolare).

L'EEG consente una registrazione *online* dell'attività cerebrale con un'alta risoluzione temporale (nell'ordine dei millisecondi). Tuttavia, rispetto ad altre tecniche neurofisiologiche, presenta una bassa risoluzione spaziale che può essere aumentata utilizzando un numero maggiore di elettrodi registranti, aumentando di conseguenza la definizione topografica della fonte del segnale EEG, come avviene con HD-EEG.

3.3.1 L'ORIGINE DEL SEGNALE

Il segnale elettrico registrato dall'EEG è generato da correnti ioniche che attraversano la membrana dendritica di neuroni piramidali, i cui corpi cellulari sono localizzati a livello del IV e V strato della corteccia cerebrale. In particolare, l'EEG rileva correnti che fluiscono nello spazio extracellulare, cioè potenziali post-sinaptici eccitatori (*Excitatory Post-synaptic Potentials*, EPSPs) ed inibitori (*Inhibitory Post-synaptic Potentials*, IPSPs), che si propagano nel tessuto cerebrale fino ad arrivare agli elettrodi posti sul cuoio capelluto (22).

3.3.1.1 Ritmi cerebrali

Regolarmente l'attività elettrica registrata con soggetto a riposo e ad occhi chiusi è l'attività *alpha* (α) con frequenza tra 8 e 13 Hz che si evidenzia maggiormente nelle regioni posteriori (occipitale) dello scalpo. Frequenze più alte sono invece registrate nelle regioni anteriori dello scalpo, come l'attività *beta* (β) con banda di frequenza maggiore di 13 Hz; questa attività è registrabile all'apertura degli occhi del soggetto a causa del fenomeno di desincronizzazione. Ritmi più lenti compaiono invece durante il sonno o in determinate condizioni patologiche, quali la demenza, e sono il ritmo *theta* (θ) tra 4 e 8 Hz e il ritmo *delta* (δ), inferiore a 4 Hz. Tuttavia, i ritmi cerebrali sono da considerarsi diversi durante l'età pediatrica rispetto all'adulto, in quanto hanno caratteristiche distintive e cambiano in modo significativo con lo sviluppo cerebrale.

3.3.2 SET UP DI ACQUISIZIONE

Le procedure di preparazione precedenti all'acquisizione del segnale consistono nell'abrasione della cute dello scalpo, nel posizionamento degli elettrodi e utilizzo di gel o pasta elettroconduttrice per ridurre l'impedenza tra la superficie dell'elettrodo e la pelle.

Esistono varie tipologie di elettrodi:

- Elettrodi a coppetta: realizzati in argento rivestito da cloruro d'argento (Ag/AgCl) e di diametro variabile da 0.1 a 1 cm, solitamente fissati sullo scalpo tramite un sostegno.
- Cuffie precablate: gli elettrodi, uguali come tipologia ai precedenti, sono tenuti in posizione grazie ad una cuffia elastica che viene posizionata sulla testa del paziente. Le cuffie variano in diametro e misura per l'impiego sia nella popolazione pediatrica che negli adulti, consentendo un miglior adattamento alla fisiologia cranica del paziente.
- Elettrodi ad ago ipodermici: realizzati in acciaio o platino, con lunghezza variabile da 1 a 2 cm, e diametro di circa 1 mm. Risultano più invasivi dei precedenti in quanto è necessario inserirli sottocute; sono infatti utilizzati prevalentemente per il monitoraggio intraoperatorio (*Intraoperative Monitoring*, IOM) o in pazienti con alterazione dello stato di coscienza.

Per il posizionamento degli elettrodi EEG la "International Federation of Clinical Neurophysiology" (IFCN) raccomanda l'utilizzo del sistema internazionale (SI) 10-20 che prevede l'utilizzo di distanze del 10% o del 20% rispetto a linee ideali che congiungono punti anatomici di riferimento sul cranio (*Figura 7*). Ogni elettrodo è identificato da una sigla composta da una lettera e un numero, dove la lettera indica l'emisfero di appartenenza (F = frontale, T = temporale, P = parietale e O = occipitale). Gli elettrodi designati con un numero pari si trovano sull'emisfero di destra, mentre i dispari sull'emisfero di sinistra (24).

Sono state proposte varianti per il posizionamento di numeri maggiori di elettrodi, come nel caso dell'HD-EEG, dove vengono utilizzati i sistemi 10-10 e il sistema 10-5 per l'aggiunta di ulteriori elettrodi. Per il sistema 10-10 viene mantenuta la nomenclatura tradizionale degli elettrodi con l'aggiunta di elettrodi intermedi rispetto al sistema 10-20. La distanza inter-elettrodica in questo caso rispetta distanze fisse percentuali del 10% partendo sempre da repere anatomici quali *nasion* ed *inion*.

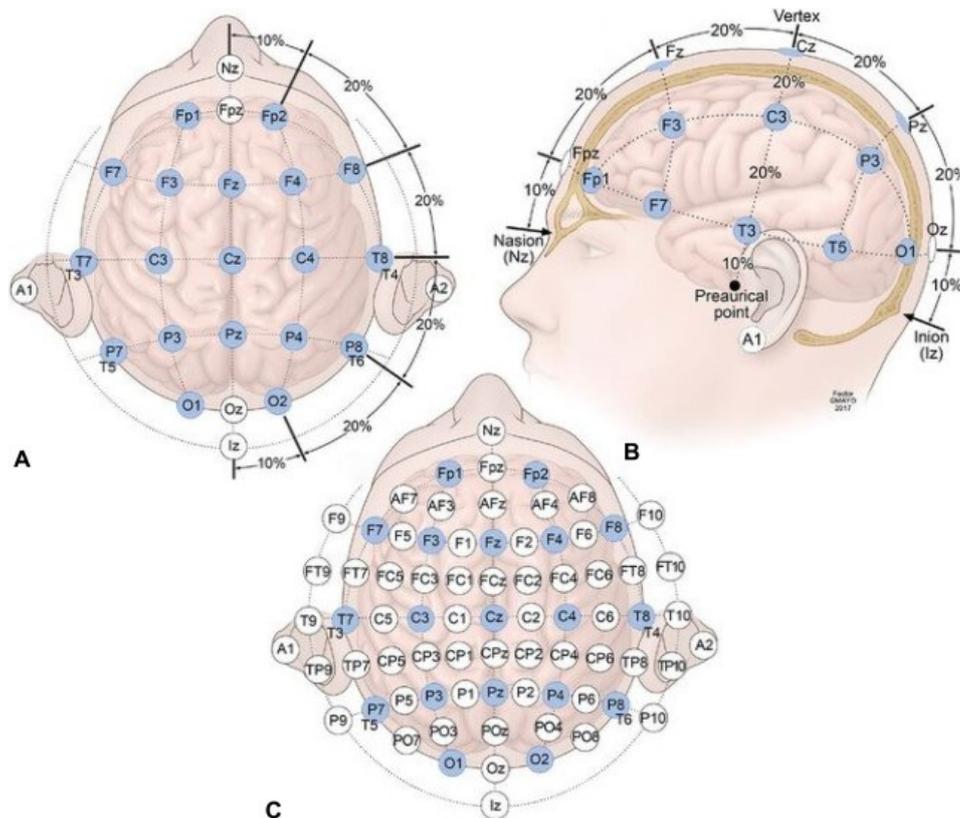


Figura 7. Sistema internazionale 10-20 visto dall'alto (A) e dal lato sinistro della testa (B). (C) Il sistema internazionale 10-10 utilizzato per EEG ad alta densità con l'applicazione di più di 21 elettrodi (24)

Gli elettrodi aggiuntivi per la regione frontale sono AF7, AF3, AF8, AF4, AFZ, F5, F1, F2, F6 e lateralmente F9, F10, FT9 e FT10. Sulle regioni fronto-centrali vengono posizionati gli elettrodi FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, GC2, FC4, FC6, e FC8 mentre nelle regioni centrali C5, C1, C2 e C6. Infine, posteriormente si posizionano gli elettrodi della regione centro-parietale CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6 e lateralmente TP9, TP7, TP6 e TP10. Posteriormente sono presenti P9, P5, P1, P2, P6, P10, PO2, PO3, POz, PO4 e PO6.

3.3.2.1 Il segnale EEG

Il segnale registrato rappresenta la differenza di potenziale elettrico tra un elettrodo registrante e il suo riferimento; ciascuna coppia di elettrodi è inoltre collegata ad un elettrodo di terra per ridurre al minimo la frequenza di rete (50 Hz), posizionato solitamente sulla fronte.

Per l'acquisizione del segnale è importante considerare anche la modalità di collegamento degli elettrodi al sistema di acquisizione. Si può avere:

- Referenza comune (*Common Reference, CR*) dove ogni elettrodo dello scalpo è riferito ad un elettrodo comune localizzato in un punto neutro per evitare la contaminazione del segnale

biologico. L'elettrodo di riferimento si può posizionare al vertice, solitamente Cz, oppure sul lobo dell'orecchio come A1 o A2, rispettivamente a sinistra e a destra.

- Referenza media (*Common Average Reference, AVG*) dove la referenza è rappresentata dalla media del potenziale di tutti gli elettrodi registranti.

Nei montaggi bipolari, dove gli elettrodi sono riferiti “a coppie”, si può eseguire un montaggio longitudinale (antero-posteriore) o trasversale (da sinistra a destra) (*Figura 8*). Nel montaggio bipolare longitudinale si parte solitamente da un elettrodo posto anteriormente, come Fp1 o Fp2, e lo si collega all'elettrodo successivo posto posteriormente, come F3 o F4, come riferimento. Lo stesso meccanismo viene applicato anche nel montaggio trasversale creando un collegamento che partendo da sinistra procede verso destra per ogni fila di elettrodi.

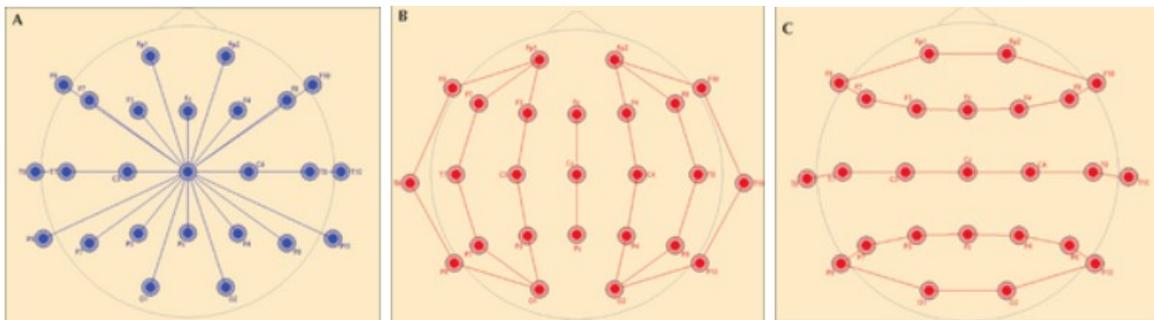


Figura 8. Diverse tipologie di montaggi: A montaggio referenziale con Cz come elettrodo di riferimento, B montaggio bipolare longitudinale, C montaggio bipolare trasversale (22)

Uno dei vantaggi dell'EEG digitale è poter visualizzare una stessa finestra di acquisizione con diversi montaggi una volta che il macchinario è in modalità offline (22).

Il potenziale registrato a livello degli elettrodi è di bassa ampiezza (5-200 μV), e necessita pertanto che il segnale elettrico venga inviato ad un amplificatore, che contiene più canali, uno per ciascun elettrodo attivo sullo scalpo. Il trasformatore all'interno dell'amplificatore garantisce che la corrente fluisca solo dagli elettrodi alla macchina, evitando l'erogazione di eventuali scosse elettriche al paziente. In ogni canale avviene la misura della differenza di potenziale (DDP) tra i due ingressi, ovvero tra l'elettrodo attivo e l'elettrodo di riferimento. Il segnale elettrico analogico acquisito viene quindi convertito in segnale digitale, ovvero in sequenze binarie, che sono quindi inviate ad un computer per la visualizzazione e la memorizzazione. Questo processo si ripete ad intervalli di tempo definiti e, la risoluzione temporale dei segnali acquisiti, è determinata dall'intervallo stabilito. In particolare, per avere una buona rappresentazione nel tempo dei segnali EEG, la frequenza di acquisizione (campionamento) deve essere almeno il doppio della frequenza più alta (ad esempio, un segnale di 40 Hz richiede almeno 80 campioni al secondo, ovvero un intervallo di tempo di 12,5

millisecondi). Solitamente gli elettroencefalografi tradizionali utilizzano come frequenza di campionamento 128 Hz; tuttavia, frequenze pari o superiori a 256 Hz vengono utilizzate quando è necessario migliorare la risoluzione temporale del segnale (ad es., per la valutazione dei ritmi più alti di oscillazione) (22).

Il segnale acquisito può essere contaminato da artefatti di origine ambientale (ad es., corrente di rete elettrica) o segnali biologici da fonti extra-cerebrali (es., contrazione dei muscoli mimici, ammiccamento, movimenti oculari, movimenti del paziente). Pertanto, dal segnale ottenuto è necessario rimuovere attività artefattale, ovvero qualsiasi attività di origine non cerebrale, utilizzando filtri digitali selettivi integrati nel sistema di amplificazione. L'effetto dei filtri applicati non è permanente, in quanto si tratta di una elaborazione post-registrazione del segnale a specifiche frequenze di oscillazione che può essere modificata in qualsiasi momento. Esistono tre principali tipologie di filtri:

- Filtro passa basso (*low-pass filter*): attenua le componenti di frequenza superiore rispetto al valore di taglio del filtro. Viene quindi applicato in caso di artefatti muscolari, che hanno una frequenza maggiore rispetto alla maggior parte dei segnali EEG
- Filtro passa alto (*high-pass filter*): attenua le componenti di frequenza inferiore rispetto al valore di taglio. Viene applicato in caso di artefatti quali il movimento del soggetto o la sudorazione. Solitamente è espresso in termini di costante di tempo, non Hz, ovvero il tempo necessario affinché l'ampiezza di un'onda quadra diminuisca del 37% del suo valore originale.
- Filtro passa banda (*band-stop filter*): attenua specifiche componenti di frequenza. Il più comunemente impiegato è il filtro *notch* utilizzato per eliminare il rumore elettrico causato dalla corrente di rete elettrica, per questo il suo valore è di 50 Hz in Europa.

3.3.3 HIGH-DENSITY EEG

L'elettroencefalogramma ad alta densità (HD-EEG) è una metodica neurofisiologica non invasiva utilizzata prevalentemente in ambito di ricerca. A differenza del montaggio standard applicato nella pratica clinica neurologica dove gli elettrodi variano da 19 a 25, nell'HD-EEG vengono utilizzati da un minimo di 64 fino ad un massimo di 256 canali. Il vantaggio dell'utilizzo di un EEG con più derivazioni è l'aumentata risoluzione spaziale che consente una migliore stima delle sorgenti di attività elettrica cerebrale, che può tuttavia portare a tempi di interpretazione e costi maggiori. Gli ambiti d'impiego diagnostico riguardano ad oggi prevalentemente l'epilessia e la neuro-oncologia, in particolare per il rilevamento dell'area epilettogena nella chirurgia dell'epilessia (19) (20).

3.3.4 L'EEG NELLA MP

Come già ampiamente detto attualmente la DBS è una terapia neuromodulatoria utilizzata per complicanze motorie in pazienti con MPa, ovvero pazienti con complicanze motorie tardive che sono gravemente limitati nelle attività di vita quotidiana, nonostante il trattamento farmacologico con L-Dopa. Il bersaglio più comunemente utilizzato per la DBS sembra essere il NST, il quale allevia i sintomi motori cardinali della MP (tremore, rigidità e bradicinesia) migliorando quindi la qualità di vita del paziente. Tuttavia, numerosi studi rilevano effetti variabili sulle funzioni cognitive. È stato infatti riportato come l'impianto della DBS a livello del NST possa influenzare le funzioni corticali, cambiamento registrato grazie all'HD-EEG e alla registrazione di potenziali bioelettrici. L'uso dell'HD-EEG fornisce infatti una copertura e una mappatura più dettagliata dell'attività corticale permettendo di prevedere i cambiamenti nell'attività della corteccia cerebrale legati alla stimolazione DBS del NST (19).

Molti studi utilizzano tecniche di risonanza magnetica funzionale (*functional Magnetic Resonance, fMRI*) per evidenziare deficit motori e cognitivi sia nelle fasi iniziali che in quelle avanzate della MP. Tuttavia, la fMRI è una tecnica che si basa su analisi indirette con una scarsa risoluzione temporale. Negli ultimi decenni, infatti, è stato sempre più impiegato l'uso dell'elettroencefalogramma e magnetoencefalografia (EEG/MEG) in studi riguardanti la FC e i disturbi neurodegenerativi, perché in grado di superare queste limitazioni. Generalmente è riconosciuto come in un soggetto sano, durante la veglia rilassata, vi è un ritmo di fondo α , mentre in paziente affetti da MP nello stesso stato è presente un'attività di tipo β , o θ nelle fasi più avanzate (35).

Alcuni studi sulla FC di pazienti con MP hanno rilevato, grazie all'utilizzo di EEG/MEG, un aumento della connettività cortico-corticale, che caratterizza i pazienti sin dalle fasi cliniche della malattia, mentre la riduzione della FC è stata correlata allo sviluppo di deficit cognitivi lievi e demenza nelle fasi avanzate della MP (33, 34).

Uno studio pubblicato nel 2023 ha valutato 26 pazienti con MP in fase precoce confrontati con 20 soggetti sani, analizzando le alterazioni della FC tramite l'HD-EEG e dimostrando una significativa differenza della FC in banda θ , α e β tra i pazienti malati e il gruppo di controllo sano. In particolare, nei pazienti con MP è stata registrata una ipoconnettività in bande di frequenza θ e α , mentre una iperconnettività è stata rilevata per l'attività in banda β , rispetto a soggetti sani, in specifici network cerebrali (34).

Inoltre, un'importante correlazione è stata evidenziata tra ipersincronizzazione β di network corticali e sintomi motori clinici di pazienti parkinsoniani, valutati tramite scale quali la MDS-UPDRS III.

Tuttavia, questa correlazione ha avuto esito negativo per l'attività in banda θ e α . Altri studi invece hanno rilevato una correlazione positiva tra attività sincrona anomala in specifici network corticali e la presenza e/o la progressione di sintomi cognitivi, valutati tramite i punteggi MoCA. (33,34).

Nonostante l'ipersincronizzazione dell'attività elettrica cerebrale in banda β tra i gangli della base e la corteccia motoria sia una caratteristica nota della fisiopatologia della MP, gli studi con HD-EEG sulla FC cortico-corticale nella MP rimangono ancora scarsi e con risultati eterogenei (34).

4. MATERIALI

4.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO

L'obiettivo generale di questo studio è la valutazione dei possibili cambiamenti della connettività funzionale cortico-corticale in pazienti con MPa sottoposti a impianto di DBS, registrata mediante HD-EEG.

Obiettivi specifici sono: i) valutare modulazioni della FC a diverse bande di frequenza indotte acutamente dall'attivazione acuta dello stimolatore (effetto acuto della DBS) e ii) esaminare possibili cambiamenti indotti a lungo termine dalla stimolazione cronica (effetti cronici della DBS). Infine, per valutare gli effetti della MP sulla FC cortico-corticale i pazienti verranno confrontati con un gruppo di soggetti sani di controllo (*healthy controls*, HC).

4.2 POPOLAZIONE

Per lo studio sono stati reclutati 11 pazienti con diagnosi di MPa (7 maschi, 4 femmine, età media $59,36 \pm 6.76$) presso la Clinica Neurologica dell'Ospedale Universitario di Padova. Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad impianto del sistema DBS Medtronic PerceptTM PC con elettrodi quadripolari direzionali (modelli B33005 o B33015), posizionati bilateralmente nel GPi (3 soggetti) o nel NST (8 soggetti). In tutti i pazienti il posizionamento del sistema DBS è stato eseguito presso il Dipartimento di Neurochirurgia dell'Ospedale Universitario di Padova. Sono stati eseguiti screening e valutazioni preoperatorie standardizzate con risonanza magnetica (RM) cerebrale e angio-RM con mezzo di contrasto, valutazioni neuropsicologiche e cliniche standardizzate. Sono stati considerati come criteri di esclusione la presenza di demenza (punteggio MoCA corretto per età e scolarità >19), diagnosi di disturbi comportamentali o psichiatrici maggiori e la presenza di alterazioni strutturali significative alla RM cerebrale. Sono stati inoltre reclutati 15 soggetti sani di controllo (HC) di sesso (7 maschi, 8 femmine) ed età (62 ± 5.2 anni) conforme ai pazienti con MP. In questa popolazione sono stati considerati i seguenti criteri di esclusione: la presenza di patologie neurologiche o psichiatriche maggiori, l'evidenza alla RM di alterazioni strutturali significative dell'encefalo e l'assunzione di farmaci che possano modificare l'attività elettrica corticale.

Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico della Ricerca locale ed è stato condotto in conformità con l'ultima versione della Dichiarazione di Helsinki.

ID	Età	Sesso	Scolarità	Età d'esordio	Età all'impianto	Durata di malattia all'impianto	Target
1	51	M	13	37	51	14	NST
2	63	F	13	45	62	17	GPI
3	62	M	13	50	62	12	NST
4	58	M	16	43	58	14	NST
5	70	M	8	61	70	9	GPI
6	65	F	15	57	65	7	NST
7	52	F	13	48	52	4	NST
8	65	M	13	48	62	14	NST
9	48	M	15	41	48	7	NST
10	61	M	11	48	60	12	NST
11	58	F	12	50	57	15	GPI
Media	59.36	-	12.90	48	58.82	11.36	-
DS	6.76	-	2.17	6.80	6.51	4.06	-

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche dei partecipanti

4.3 REGISTRAZIONE HD-EEG

Per l'acquisizione dell'attività EEG è stato utilizzato un sistema ad alta densità (NeurOne, Bittium, Helsinki, Finlandia), ovvero un sistema che utilizza un campionamento spaziale più elevato degli elettrodi posizionati sullo scalpo rispetto ad un montaggio standard con, un numero inferiore di elettrodi. Grazie all'utilizzo di HD-EEG è stato possibile avere una maggiore risoluzione spaziale e specificità dei dati analizzati.

È stata utilizzata una cuffia elastica precablata (EASYCAP, Easycap, Woerthsee, Germania) di 64 elettrodi passivi posizionati secondo il Sistema Internazionale 10-10 e mantenendo dunque distanze interelettrodiche fisse; la cuffia viene posizionata sulla testa del paziente facendo corrispondere l'elettrodo Cz con il vertice nel punto di incrocio tra *nasion* ed *inion*. In particolare gli elettrodi sono stati: Fp1, Fp2, F3, F4, C3, C4, P3, P4, O1, O2, F7, F8, T7, T8, P7, P8, Fz, Cz, Pz, Iz, FC1, FC2, CP1, CP2, FC5, FC6, CP5, CP6, TP9, TP10, F1, F2, C1, C2, P1, P2, AF3, AF4, FC3, FC4, CP3, CP4, PO3, PO4, F5, F6, C5, C6, P5, P6, AFz, FCz, FT7, FT8, TP7, TP8, PO7, PO8, Fpz, Cpz, POz, Oz. L'elettrodo di riferimento è stato settato su FCz mentre la terra è stata posizionata sull'elettrodo AFZ.

Sono stati utilizzati elettrodi ad anello a C in Argento/ Argento-Cloruro (Ag/AgCl) montati nella cuffia. La preparazione degli elettrodi sullo scalpo è stata eseguita tramite trattamento della cute sottostante ciascun elettrodo con soluzione alcolica e sgrassante, con successiva applicazione di pasta elettroconduttrice. Tale procedura risulta necessaria al fine di ridurre al minimo le resistenze tra l'elettrodo e la cute, migliorando la qualità della registrazione e riducendo la contaminazione del segnale da possibili artefatti. Al termine del montaggio, le impedenze tra la cute e gli elettrodi EEG sono state valutate, corrette e mantenute inferiori a 5 k Ω . I segnali EEG sono stati acquisiti utilizzando una frequenza di campionamento di 1024 Hz, ed è stato applicato un filtro passa banda tra 0.1 e 1000 Hz.

I movimenti oculari e di ammiccamento sono stati valutati durante l'acquisizione EEG tramite elettroculogramma (EOG), posizionando una coppia di elettrodi ad anello con montaggio bipolare sul margine latero-superiore e latero-inferiore dell'occhio destro previa pulizia della cute con alcol pasta sgrassante. Inoltre, per la rilevazione di eventuali artefatti muscolari, sono stati applicati una coppia di elettrodi adesivi sui muscoli flessori delle dita e del carpo bilateralmente (elettromiografia, EMG). Il filtro passa banda è stato impostato tra 20 e 200 Hz.

5. METODI

5.1 PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Tutte le sessioni sperimentali si sono svolte presso la Clinica di Neurologia dell'Ospedale Universitario di Padova. Ciascun paziente è stato sottoposto a due sessioni sperimentali: prima dell'impianto del sistema DBS (PRE-DBS) e dopo almeno sei mesi dall'intervento (POST-DBS).

In entrambe le sessioni i pazienti sono stati valutati dopo la sospensione della terapia con L-Dopa per almeno 8 ore (MED-OFF). Inoltre, nella sessione POST-DBS, la registrazione HD-EEG è stata eseguita in due condizioni: i) con la DBS accesa ai parametri di stimolazione usuali del paziente (POST-DBS-ON) e ii) dopo spegnimento della stimolazione (POST-DBS-OFF). All'inizio di ogni registrazione, dopo aver sistemato il paziente nella posizione più confortevole, sono stati registrati 10 minuti di tracciato con paziente ad occhi chiusi (OC) e successivamente 8 minuti ad occhi aperti (OA), chiedendo ai soggetti di fissare un bersaglio posto su un paravento a circa 70 cm di distanza, aiutandolo a direzionare lo sguardo per evitare di compiere movimenti oculari. Il medesimo protocollo di registrazione è stato condotto nei soggetti sani di controllo (HC) in un'unica sessione sperimentale.

Scale di valutazione clinica. In ciascuna sessione sperimentale a tutti i pazienti sono stati somministrati questionari per la valutazione della funzione cognitiva, dei sintomi motori e non motori. In particolare, per la sfera cognitiva è stato somministrato il "Montreal Cognitive Assessment" (MoCA), per i sintomi non motori sono state utilizzate le sezioni I e II della "Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale" (MDS-UPDRS I e II). Infine, i sintomi motori sono stati valutati attraverso la parte III del MDS-UPDRS somministrato dopo sospensione prolungata della L-Dopa (MED-OFF). Inoltre, nella valutazione POST-DBS, la MDS-UPDRS III è stata somministrata sia durante l'attivazione della DBS sia dopo il suo spegnimento.

ID	PRE-DBS					POST DBS					
	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III*	UPDRS IV	MoCA **	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III*		UPDRS IV	MoCA **
								SOFF	SON		
1	7	15	48	6	26.5	7	10	49	38	3	24.5
2	6	4	43	5	27.0	6	13	42	29	5	27.9
3	4	1	72	8	25.1	2	7	46	48	5	25.1
4	7	20	61	11	16.5	4	13	69	45	1	19.3
5	7	14	34	6	24.7	2	13	36	15	3	24.7
6	13	15	42	11	25.0	16	8	22	20	5	26.6
7	11	12	29	12	21.5	9	13	48	29	3	19.5
8	9	33	0	10	26.0	9	33	45	71	10	25.9
9	8	8	21	12	25.2	2	0	18	1	7	23.2
10	9	19	45	9	27.0	6	7	31	23	4	25.2
11	23	32	21	13	22.5	21	26	72	53	16	23.5
Media	9.4	15.7	37.8	9.4	24	7.6	13	43.4	33.8	5.6	24.1
DS	5.1	10.1	19.9	2.8	3.1	6.1	9.2	16.9	19.7	4.2	2.70

*Tabella 2. Punteggi scale di valutazione clinica prima (PRE-DBS) e dopo almeno sei mesi (POST-DBS) dall'intervento di posizionamento del sistema DBS. *La scala MDS-UPDRS III è stata somministrata dopo almeno otto ore dall'ultima somministrazione di L-Dopa (OFF farmacologico, MED-OFF). **I punteggi del MoCA sono stati corretti in ogni paziente per età e scolarità secondo formule standardizzate.*

5.2 ANALISI DEI DATI

I segnali EEG sono stati esportati dal sistema di acquisizione come file .eeg e stored su un *personal computer* per le successive analisi *offline*. Per il processamento dei segnali EEG è stato utilizzato il toolbox EEGLAB v2023 di MatLAB (MathWorks Inc., Natick, USA). Come in studi precedenti,

l'analisi delle componenti indipendenti (*Independent Component Analysis*, ICA) è stata utilizzata per rimuovere artefatti biologici o ambientali (movimento degli elettrodi, attività da ammiccamento, ecc.) e successivamente i dati sono stati ispezionati visivamente per rimuovere attività artefattale residua (31). L'analisi delle componenti indipendenti (ICA) è un algoritmo per trasformare un segnale in componenti distinte e non correlate. Quando l'ICA viene applicata ai dati EEG, ci si aspetta che alcune componenti assomiglino strettamente alle sorgenti originali dei segnali, mentre altre rappresenteranno probabilmente artefatti indesiderati (32).

Dopo aver eseguito l'analisi spettrale utilizzando la trasformata di *Fourier* veloce (*Fast Fourier Transform*, FFT) per la misurazione della Densità Spettrale di Potenza (*Power Spectral Density*, PSD), gli spettri di frequenza sono stati confrontati tra i diversi *timepoints* al fine di valutare cambiamenti longitudinali dell'attività oscillatoria cerebrale.

Per valutare la connettività funzionale (FC) corticale, è stato applicato il Metodo degli Elementi di Contorno (*Boundary Element Method*, BEM) per risolvere il *forward problem*, mentre la *weighted Minimum-Norm Estimation* (wMNE) verrà applicata per risolvere l'*inverse problem*. La FC è stata calcolata nelle bande di frequenza theta (4-8 Hz), alfa (8-13), β (13-30 Hz) e gamma (30-90 Hz).

Le possibili correlazioni tra parametri clinici e neurofisiologici sono state valutate tramite il test di correlazione di Spearman. In particolare, sono state eseguite analisi separate per la valutazione degli effetti cronici e acuti della DBS. Per testare la presenza di correlazioni tra le variazioni dei parametri neurofisiologici e clinici prima e dopo DBS sono stati confrontati i cambiamenti nelle scale cliniche (misurati come differenza tra i valori dei punteggi POST-DBS-OFF e PRE-DBS) e le differenze nei valori della *mean network connectivity* (mNC) dei network nelle bande di frequenza θ , *low- β* e *high- β* agli stessi *timepoints*. In particolare, sono stati valutati i cambiamenti in tutte le sezioni della MDS-UPDRS (I-IV) e nel punteggio MoCA corretto per età e scolarità. Per valutare possibili correlazioni tra il cambiamento acuto della gravità sintomi motori e di connettività funzionale dopo accensione della DBS sono stati confrontati la differenza nei valori di MDS-UPDRS III nelle condizioni POST-DBS-ON e POST-DBS-OFF e le differenze tra i valori della mNC in banda *low- β* .

Un valore di $p \leq 0.05$ è stato considerato come significativo in tutte le analisi di correlazione. Per le analisi statistiche di correlazione sono state eseguite utilizzando il software STATISTICA v. 10.0.228.2 (TIBCO software, USA).

6. RISULTATI

6.1 DIFFERENZA NELLA FC TRA HC E PAZIENTI CON MP PRE-DBS

Innanzitutto, abbiamo analizzato la differenza nella FC banda-specifica tra i controlli sani (HC) e i pazienti affetti da MP prima dell'impianto DBS (PRE-DBS) in condizione di OFF farmacologico (MED-OFF).

Attraverso l'analisi *Network-Based Statistic* (NBS), abbiamo identificato un network statisticamente significativo nella banda di frequenza α ($t=3.2$, $p<0.001$), in cui la FC è inferiore nei pazienti con MP rispetto ai controlli sani. Questo network è composto da 33 nodi e 78 connessioni ed è leggermente lateralizzato nell'emisfero destro. Le regioni di interesse (*regions of interest*, ROIs) con un grado maggiore (ovvero un maggiore numero di connessioni) sono parte della corteccia prefrontale dorsolaterale e ventrolaterale (corteccia frontale superiore sinistra, corteccia frontale media caudale sinistra e pars opercularis destra), della corteccia orbitofrontale (aree orbitofrontali mediali e laterali bilaterali), della corteccia sensorimotoria (prevalentemente paracentrale destra e precentrale sinistra), temporale (principalmente temporale superiore bilaterale) e limbica (principalmente corteccia cingolata anteriore bilaterale) (*Figura 9, Pannelli A-B*).

Inoltre, è stato trovato un network significativo nella banda *low- β* ($t=3.2$, $p=0.01$), caratterizzato al contrario da una iper-connettività nei pazienti con MP rispetto ai HC. Il network comprende 31 nodi e 76 connessioni, ed è simmetrico nei due emisferi. Le regioni cerebrali con un grado maggiore sono parte della corteccia sensorimotoria (principalmente corteccia precentrale e postcentrale bilaterale), limbica (prevalentemente corteccia cingolata anteriore e posteriore bilaterale) e parietale (principalmente precuneo bilaterale) (*Figura 9, Pannelli C-D*).

Inoltre, abbiamo identificato un network nella banda *high- β* ($t=3.3$, $p=0.045$), caratterizzato da una significativa iper-connettività nei pazienti con MP rispetto ai controlli. Il network è composto da 26 nodi e 66 connessioni ed è prevalente nell'emisfero destro. Le regioni cerebrali con un grado maggiore sono parte delle aree sensorimotori (principalmente corteccia precentrale e postcentrale bilaterale) e limbiche (prevalentemente corteccia cingolata anteriore) (*Figura 9, Pannelli E-F*).

Nessuna differenza significativa è stata osservata nelle restanti bande di frequenza.

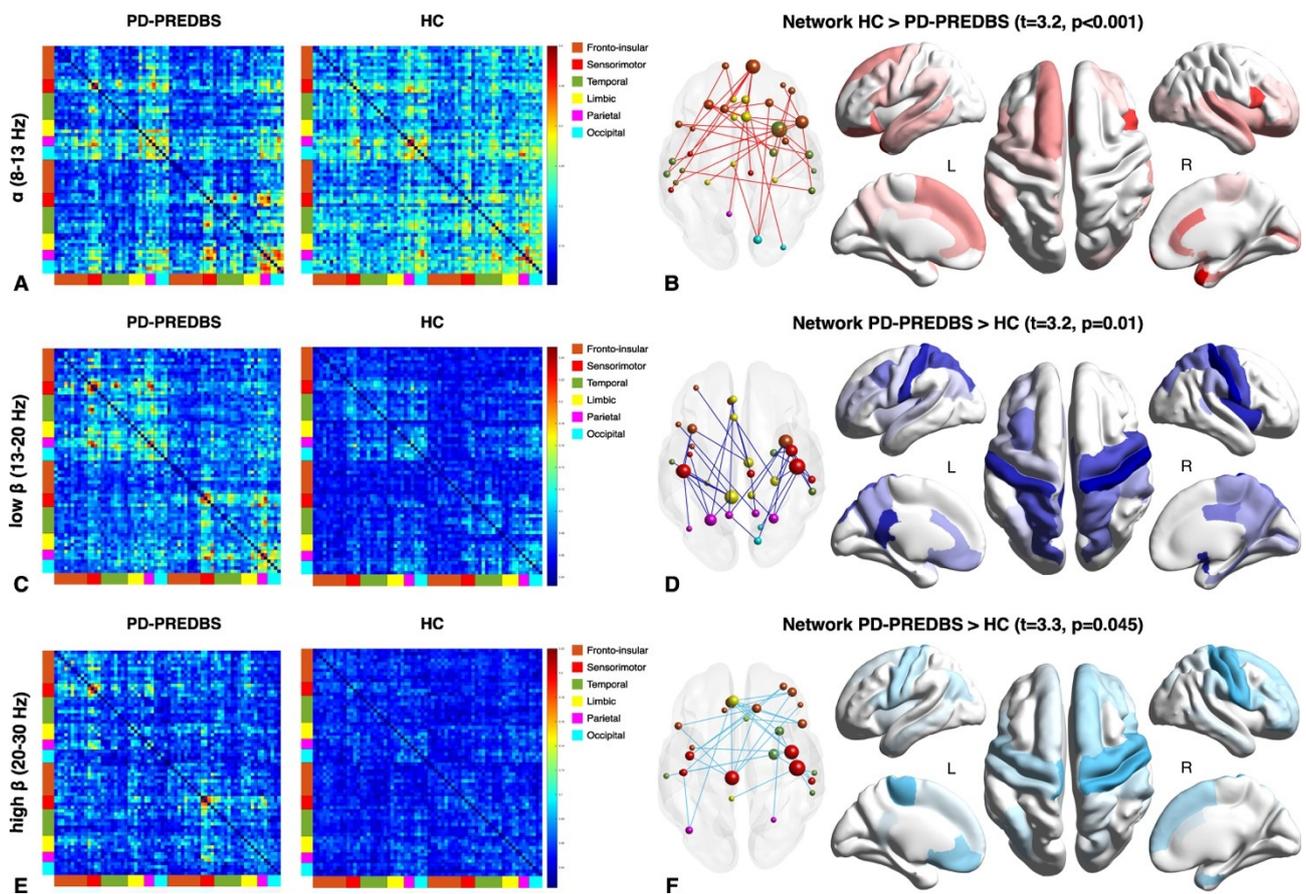


Figura 9. Rappresentazione dei network differenziali tra pazienti con MP al T0 (PD-PRE-DBS) e soggetti sani di controllo (HC) nelle diverse bande di frequenza esaminate: α (pannelli A-B), $low-\beta$ (pannelli C-D) e $high-\beta$ (pannelli E-F). I pannelli di sinistra (A, C, E) rappresentano le matrici di contingenza dei valori di FC, mentre i pannelli di destra (B, D, F) riportano i nodi, le connessioni e la localizzazione dei network differenziali identificati.

6.2 DIFFERENZA NELLA FC DEI PAZIENTI CON MP POST-DBS ALL'ACCENSIONE DBS

Abbiamo quindi esaminato l'effetto acuto della DBS sulla connettomica EEG, analizzando la differenza nella FC nelle diverse bande di frequenza nei pazienti con MP dopo almeno sei mesi dall'impianto del sistema DBS prima e dopo accensione acuta della DBS (POST-DBS-ON vs. POST-DBS-OFF).

Attraverso la NBS, abbiamo trovato un network nella banda $low-\beta$ ($t=3.2$, $p=0.005$), caratterizzato da una riduzione significativa della FC nei pazienti con MP dopo accensione della DBS. Il network comprende 28 nodi e 58 connessioni ed è simmetrico nei due emisferi. Le regioni cerebrali con un grado maggiore sono parte delle aree sensorimotorie (principalmente corteccia precentrale sinistra), prefrontali (prevalentemente aree dorsoventrali bilaterali), parietali (principalmente corteccia

inferiore parietale destra), e limbiche (corteccia cingolata anteriore bilaterale e posteriore sinistra) (Figura 10).

Nessuna differenza significativa è stata osservata nelle restanti bande di frequenza.

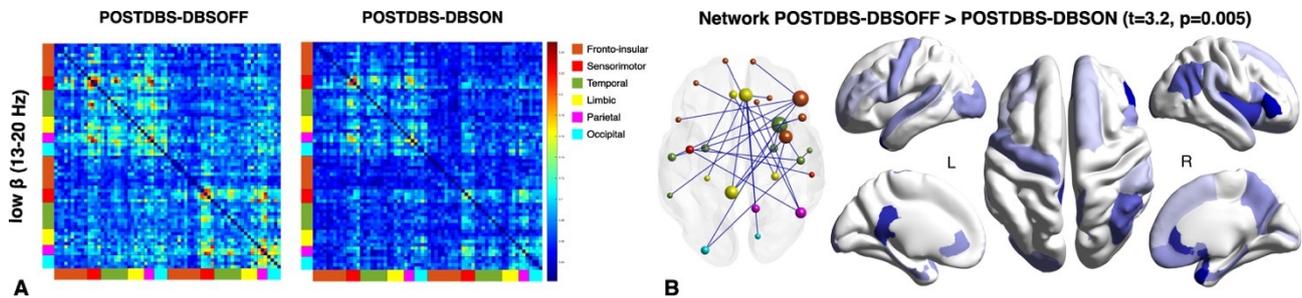


Figura 10. Rappresentazione del network differenziale tra pazienti con MP valutati durante la stimolazione DBS (POST-DBS-ON) e dopo lo spegnimento della stimolazione (POST-DBS-OFF) l'intervento dopo spegnimento della stimolazione. Il pannello di sinistra (A) rappresenta le matrici di contingenza dei valori di FC, mentre il pannello di destra (B) riporta i nodi, le connessioni e la localizzazione del network differenziale identificato in banda di frequenza low- β .

6.3 DIFFERENZA NELLA FC DEI PAZIENTI CON MP PRE- E POST-DBS

Abbiamo quindi esaminato l'effetto cronico della DBS sulla connettomica EEG, analizzando la differenza nella FC alle diverse bande di frequenza nei pazienti con MP prima dell'impianto DBS (PRE-DBS) e dopo sei mesi dall'impianto DBS (POST-DBS-OFF).

Utilizzando la NBS, abbiamo identificato un network nella banda θ ($t=3.2$, $p=0.008$), in cui la FC è maggiore nei pazienti con MP post impianto DBS. Il network è composto da 26 nodi e 76 connessioni, ed appare lateralizzato nell'emisfero destro. Le aree cerebrali con un grado maggiore sono parte del lobo temporale (principalmente corteccia media e inferiore e polo temporale destro), della corteccia orbitofrontale destra e della corteccia sensorimotoria (prevalentemente paracentrale bilaterale e postcentrale sinistra) (Figura 11, Pannelli A-B).

Inoltre, è stato identificato un diffuso network significativo nella banda low- β ($t=3.2$, $p<0.001$), caratterizzato al contrario da una riduzione della FC nei pazienti con MP post impianto DBS. Il network comprende 57 nodi e 166 connessioni ed è simmetrico nei due emisferi. Le regioni cerebrali con un grado maggiore sono parte delle aree sensorimotorie (principalmente corteccia precentrale e postcentrale bilaterale con prevalenza destra), prefrontali (prevalentemente aree dorsolaterali bilaterali), parietali (principalmente corteccia inferiore parietale e precuneo bilaterale), limbiche (corteccia cingolata posteriore) e dell'insula bilateralmente (Figura 11, Pannelli C-D).

Infine, abbiamo identificato un network nella banda *high-β* ($t=3.2$, $p=0.003$), caratterizzato da una significativa ipoconnettività nei pazienti con MP post impianto DBS. Il network è composto da 32 nodi e 72 connessioni ed appare ugualmente distribuito tra i due emisferi. Le regioni cerebrali con un grado maggiore sono parte del lobo prefrontale (principalmente aree dorsolaterali sinistre), sensorimotorio (prevalentemente area precentrale sinistra) e limbico (prevalentemente corteccia cingolata anteriore bilaterale) (Figura 11, Pannelli E-D).

Nessuna differenza significativa è stata osservata nella FC delle restanti bande di frequenza.

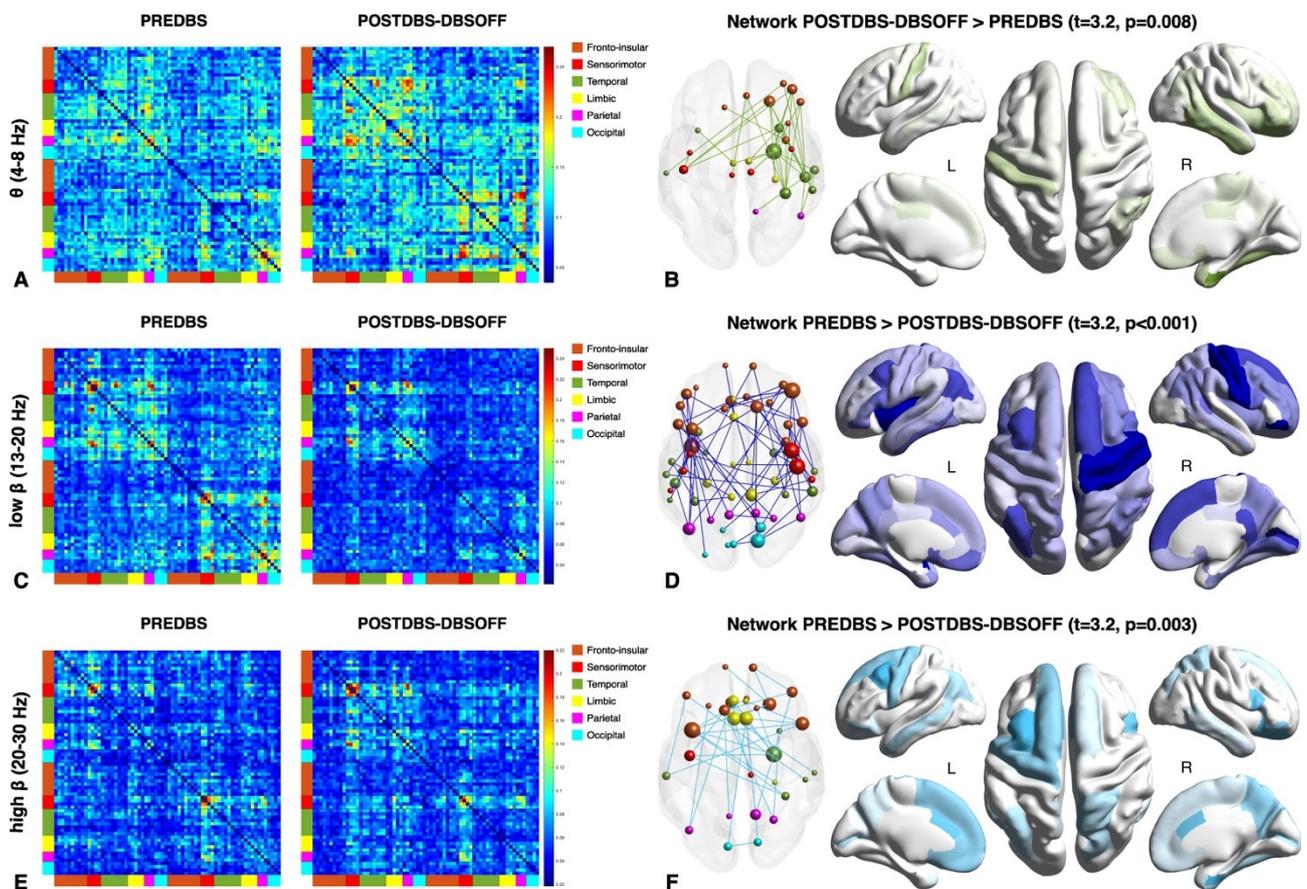


Figura 11. Rappresentazione dei network differenziali nei pazienti con MP valutati prima (PRE-DBS) e sei mesi dopo (POST-DBS-OFF) l'intervento dopo spegnimento della stimolazione, nelle diverse bande di frequenza esaminate: θ (pannelli A-B), $low-\beta$ (pannelli C-D) e $high-\beta$ (pannelli E-F). I pannelli di sinistra (A, C, E) rappresentano le matrici di contingenza dei valori di FC, mentre i pannelli di destra (B, D, F) riportano i nodi, le connessioni e la localizzazione dei network differenziali identificati.

6.4 CORRELAZIONI CLINICO-NEUROFISIOLOGICHE

Analizzando le associazioni tra i cambiamenti della FC nei network differenziali identificati tramite NBS a seguito dell'intervento (PRE-DBS vs POST-DBS-OFF) e le variazioni dei punteggi alle scale cliniche sono state identificate alcune rilevanti correlazioni.

Abbiamo innanzitutto osservato una correlazione positiva statisticamente significativa tra le variazioni dei valori della mNC nel network differenziale in *low-β* (FC PRE-DBS>POST-DBS-OFF) ed i cambiamenti del punteggio dell'MDS-UPDRS III prima e dopo l'intervento (R=0.657, p=0.027). Non sono state invece rilevate correlazioni significative tra i cambiamenti della FC del network in *low-β* e le differenze nei punteggi delle restanti sezioni dell'MDS-UPDRS.

È stata inoltre rilevata una correlazione positiva con tendenza alla significatività statistica tra i cambiamenti della mNC del network in *high-β* (FC PRE-DBS>POST-DBS-OFF) e il cambiamento post-intervento del punteggio della MDS-UPDRS IV (R=0.57, p=0.067).

Non è stata osservata alcuna correlazione significativa tra i cambiamenti della mNC nei network in θ prima e dopo l'intervento e le variazioni delle scale cliniche somministrate (MDS-UPDRS I-IV e MoCA).

Abbiamo quindi valutato le associazioni tra i cambiamenti acuti della FC nel network *low-β* indotti dall'accensione della DBS (FC POST-DBS-OFF>POST-DBS-ON) e il miglioramento dei sintomi motori valutati tramite la MDS-UPDRS III. È stato così identificata una correlazione positiva con tendenza alla significatività tra il cambiamento nei valori della mNC del network *low-β* e la variazione del punteggio totale dell'MDS-UPDRS III (R=0.58, p=0.056).

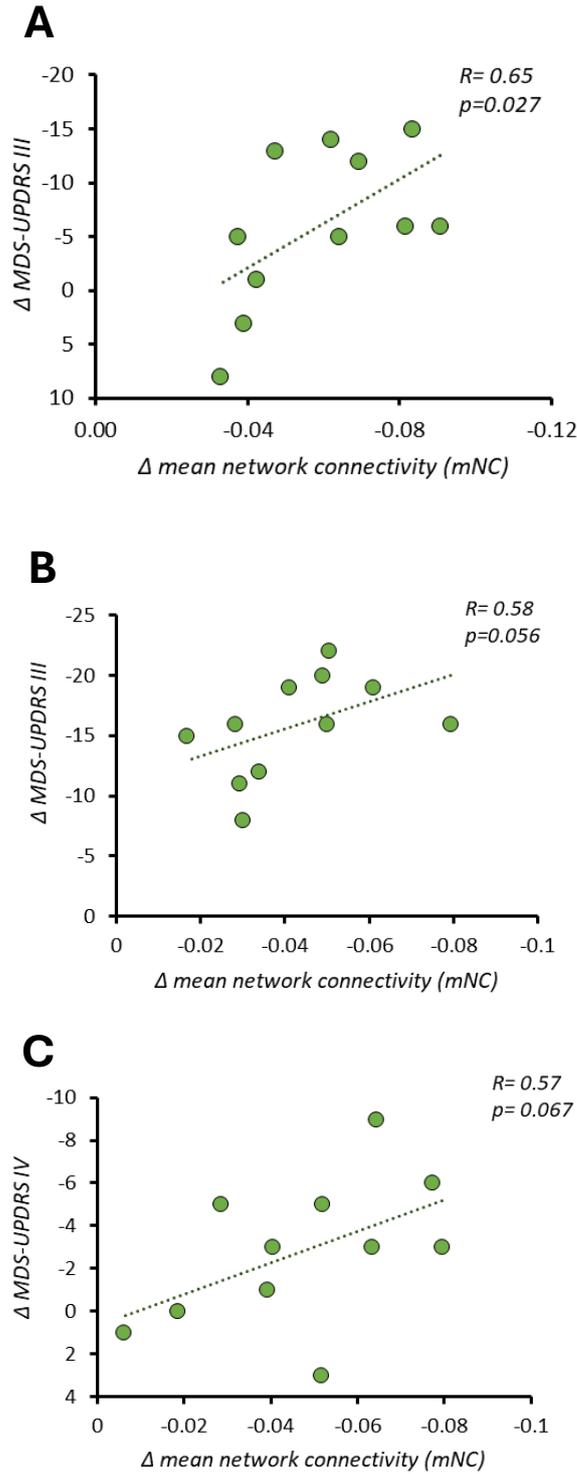


Figura 12. Correlazioni clinico-neurofisiologiche. **A)** Correlazioni tra le differenze nella mNC nel network low- β dopo attivazione acuta della DBS (POST-DBS-ON – POST-DBS-OFF) e le variazioni dell'MDS-UPDRS III. **B)** Correlazioni tra le differenze nella mNC nel network low- β dopo trattamento cronico con DBS (POST-DBS-OFF – PRE-DBS) e le variazioni dell'MDS-UPDRS III. **C)** Correlazioni tra le differenze nella mNC nel network high- β prima e dopo l'intervento DBS (POST-DBS-OFF – PRE-DBS) e le variazioni dell'MDS-UPDRS III.

7. DISCUSSIONE

Nel presente studio abbiamo valutato possibili differenze funzionali nelle connessioni tra diverse aree corticali valutate tramite HD-EEG in pazienti con MPa sottoposti a trattamento con DBS. In particolare, sono stati innanzitutto valutati i cambiamenti acuti della FC indotti dalla DBS dopo almeno sei mesi dall'intervento, confrontando l'attività EEG prima e dopo lo spegnimento della stimolazione. Abbiamo identificato un network localizzato nelle regioni sensorimotorie, prefrontali e parietali nella banda di frequenza *low-β* caratterizzato da una riduzione della FC dopo accensione della DBS. I pazienti sono stati quindi valutati longitudinalmente prima e almeno sei mesi dopo l'intervento di posizionamento del sistema DBS al fine di esaminare possibili cambiamenti cronici indotti dalla DBS.

Infine, sono state valutate le correlazioni clinico-neurofisiologiche tra le variazioni acute e croniche della FC nei network identificati e i cambiamenti nei punteggi delle scale cliniche somministrate in entrambe le sessioni sperimentali PRE- e POST-DBS.

Al fine di considerare il solo effetto della malattia riducendo al minimo gli effetti modulatori della terapia dopaminergica, tutti i pazienti sono stati valutati unicamente nella condizione di OFF farmacologico (MED-OFF), ovvero circa 8 ore dall'ultima somministrazione della dose abituale di L-Dopa. Inoltre, lo stesso intervallo dall'ultima assunzione di L-Dopa è stato applicato sia nella valutazione preoperatoria che in quella postoperatoria, al fine di valutare i pazienti in condizioni farmacologiche simili.

7.1 NETWORK DISFUNZIONALI NELLA MP

In accordo con evidenze presenti in letteratura, i nostri risultati dimostrano la presenza di differenze nella FC cortico-corticale in specifici network cerebrali nelle bande di frequenza α e β in pazienti con MP rispetto a soggetti sani di controllo (HC).

Infatti, studi precedenti con HD-EEG in pazienti MP e HC hanno osservato differenze significative nella sincronizzazione di network cerebrali a specifiche bande di frequenza. È stato pertanto ipotizzato che le differenze nella FC identificate nei pazienti con MP riflettano network distinti implicati nella fisiopatologia della malattia che possano essere coinvolti nella genesi dei sintomi motori e non motori della patologia. In linea con i risultati di questi studi, i nostri dati dimostrano la presenza di network differenziali sincronizzati a specifiche bande di frequenze e spazialmente distinti tra pazienti con MP e HC.

Innanzitutto, i nostri risultati dimostrano una riduzione della FC in banda di frequenza α (8-13 Hz) nei pazienti con MPa rispetto ai HC in un network localizzato a livello della corteccia prefrontale, orbitofrontale, sensorimotoria, temporale e limbica.

Precedenti studi hanno documentato una riduzione della FC corticale in banda α in diverse patologie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer e la Demenza a corpi di Lewy (36). Tale ipoconnettività è stata descritta anche nella MP sin dalle fasi iniziali della malattia. In particolare, in accordo con i risultati del nostro studio, un precedente studio HD-EEG in pazienti MP *de novo* ha dimostrato la presenza di una riduzione nella FC in banda α rispetto a HC a livello di network localizzati nelle regioni sensorimotorie, parieto-occipitali e del giro frontale inferiore. L'evidenza di tale differenza anche nella nostra coorte di pazienti MP in fase avanzata dimostra la persistenza di tale alterazione anche con la progressione di malattia (34). Inoltre, un precedente studio EEG ha mostrato una riduzione della FC in α a livello del *default-mode* network e di network fronto-temporali in pazienti con MP con più evidente deterioramento cognitivo e con più marcata progressione nel tempo dei deficit cognitivi (33). Sebbene i meccanismi alla base di tale alterazione siano ad oggi ancora poco noti, è stato ipotizzato che la ridotta connettività in banda di frequenza α sia correlata al coinvolgimento del sistema colinergico corticale e ascendente tronco encefalico (37, 38).

Abbiamo inoltre identificato un aumento della FC nelle bande di frequenza *low- β* (13-20 Hz) e *high- β* (20-30 Hz) nei pazienti con MP rispetto ai HC in due network distinti localizzati prevalentemente a livello delle aree parietale (*high- β*), sensorimotorio e limbico (*high- β* e *low- β*). L'ipersincronizzazione anomala in banda di frequenza β a livello dei nuclei della base è un'alterazione patologica ben nota nella fisiopatologia della MP, ed è stata correlata in modo consistente con la gravità della bradicinesia (28, 44, 45). Sebbene i meccanismi fisiopatologici alla base dell'ipersincronizzazione in banda β non siano del tutto noti, è stato ipotizzato che le oscillazioni anomale originino a livello della corteccia motoria e siano da qui trasmesse a livello dei circuiti cortico-basali. In accordo con evidenze precedenti, i nostri risultati mostrano un'iperconnettività in entrambe le sottobande β nei pazienti con MPa rispetto a controlli sani. Inoltre, questa osservazione è in linea con i risultati di un recente studio HD-EEG condotto su pazienti *de novo*, dove è stato dimostrato come l'aumento della FC in banda β in soggetti con MP a livello di network motori e non-motori (31). Inoltre, le alterazioni della FC correlavano positivamente con la gravità della bradicinesia, indicando un possibile ruolo fisiopatologico nella MP (34). Pertanto, la disfunzione dei network corticali in banda β potrebbe essere presente già dalle fasi precoci di malattia e permanere con la progressione della patologia. A tal riguardo, questo risultato è in apparente contrasto con un precedente studio EEG di Yassine et al. longitudinale su pazienti affetti da MP, dove è stata riscontrata una progressiva

riduzione della FC in banda β con la progressione di malattia (33). Tuttavia, i pazienti sono stati valutati durante l'assunzione della terapia dopaminergica, mentre nel presente studio tutti i soggetti con MP sono stati valutati in condizione di OFF farmacologico (almeno 8 ore dopo la sospensione della terapia con L-Dopa). Questa differenza potrebbe spiegare la discordanza con i risultati del presente studio, in considerazione della nota modulazione negativa esercitata dalla terapia dopaminergica sulle oscillazioni in banda β .

I nostri risultati non mostrano la presenza di differenze significative nella FC cortico-corticale nelle altre bande di frequenza analizzate. In particolare, rispetto allo studio di Conti et al. non sono state identificati network differenziali in banda di frequenza θ tra pazienti MP e HC (34). Tuttavia, nello studio citato sono stati inclusi pazienti MP *de novo* e *drug naïve*, mentre nel presente studio sono stati valutati pazienti con MP in stadio avanzato di malattia. Non possiamo pertanto escludere che la mancata evidenza di cambiamenti della FC in banda θ sia attribuibile a tale fattore o possa emergere aumentando la numerosità campionaria nel nostro studio.

7.2 EFFETTI ACUTI DELLA DBS

Esaminando possibili cambiamenti nella FC cortico-corticale indotti acutamente dalla DBS è stata identificata una riduzione della FC in banda di frequenza low- β (FC POST-DBS-ON<POST-DBS-OFF) a livello di un network localizzato prevalentemente nelle aree sensorimotorie, prefrontale, parietale e limbica.

Gli effetti modulatori della DBS sull'attività oscillatoria in banda β nella MP sono stati valutati prevalentemente a livello dei nuclei della base, in particolare a livello del NST (44, 45). Numerosi studi hanno evidenziato come a livello sottocorticale la stimolazione elettrica produca una riduzione dell'attività β ipersincronizzata caratteristica della MP e come tale modulazione correli con il miglioramento dei sintomi motori indotti dalla DBS (46) Pertanto, la modulazione della FC cortico-corticale osservata a livello delle aree sensorimotorie dimostra la presenza di una modulazione di network cortico-corticali. Tale effetto potrebbe rispecchiare in prima ipotesi la presenza di un effetto della stimolazione anche a livello dell'intero network cortico-basale-talamo-corticale, come suggerito da precedenti studi (28). A sostegno di questa ipotesi, abbiamo osservato come la riduzione della connettività in banda β correli con il miglioramento della gravità dei sintomi motori indotti dalla stimolazione.

Alcune evidenze suggeriscono come la sincronizzazione nella banda β potrebbe avere proprietà anti-cinetiche, ovvero di inibizione del movimento. Infatti, in pazienti con MP, la coerenza tra NST-GPi-corteccia motoria tende a diminuire durante la preparazione e l'esecuzione del movimento, così come

durante il trattamento con L-Dopa. Sebbene il meccanismo patologico alla base di questo fenomeno non sia completamente compreso, alcuni studi sostengono l'ipotesi che la sincronizzazione nella banda beta tra le aree corticali, lo STN e il GPi sia probabilmente guidata dalla corteccia motoria, a differenza dell'attività in banda γ che sembra essere guidata dal NST e GPi portando ad effetti procinetici (31). È stato inoltre recentemente ipotizzato come l'attività oscillatoria in banda β non sia uniforme, bensì presenti proprietà diverse nelle due sottobande. In particolare, l'attività in banda *low*- β sarebbe da considerarsi patologica.

Inoltre, i nostri risultati sono in linea con un precedente studio HD-EEG su pazienti con MPa trattati con DBS bilaterale del NST, dove è stata documentata una riduzione acuta della FC cortico-corticale in banda β in un network localizzato nelle regioni frontale, sensorimotoria, e limbica.

Si ipotizza inoltre che l'ipersincronizzazione in banda β non sia limitato alle aree motorie, ma sia un fenomeno corticale diffuso; i nostri risultati riportano un aumento della FC in banda β a livello delle aree sensorimotorie, frontali e limbiche in pazienti con MPa come osservato in uno studio. La riduzione in acuto registrata a seguito dell'accensione della DBS potrebbe essere spiegata dall'importanza del NST nei circuiti motori, frontali e limbici dei gangli della base che viceversa porta alla persistenza dell'ipersincronizzazione in banda β nei network corticali adiacenti per una modulazione non diretta del NST-DBS (31).

7.3 EFFETTI CRONICI DELLA DBS

In conformità con quanto espresso i nostri risultati, confrontando i dati acquisiti prima e dopo l'intervento, evidenziano una riduzione della connettività in bande sia *high*- che *low*- β a livello di network distinti; in particolare per le bande *high*- β a livello dell'area premotoria, prefrontale e limbica, mentre per il *low*- β nelle aree sensorimotorie e prefrontali. Inoltre, è stato rilevato un network nella banda θ in cui la FC è maggiore nei pazienti con MP post DBS, soprattutto nelle aree cerebrali del lobo temporale, della corteccia orbitofrontale e della corteccia sensorimotoria.

È stato inoltre dimostrato come in pazienti con MP a seguito di impianto DBS ci sia una correlazione tra riduzione dell'attività β sincronizzata e un miglioramento di sintomi motori, quali rigidità e bradicinesia. In aggiunta a questo, nello stesso studio condotto nel 2020 sul *coupling* delle oscillazioni γ e la frequenza di stimolazione della DBS, è stato ipotizzato che una iper-sincronizzazione dell'attività β si correli anche ad una inflessibilità di processi cognitivi, limitando la capacità di elaborazione di nuove informazioni e di adattamento (39).

Come è già stato fatto per la terapia farmacologica con L-Dopa, si può ipotizzare come la riduzione dell'attività β registrata anche a stimolazione spenta con tecniche quali EEG/MEG e il miglioramento

dei sintomi motori in pazienti con MP a seguito dell'impianto del sistema DBS sia correlato con un meccanismo di neuroplasticità che la DBS induce come effetto cronico della stimolazione (40). Riguardo a questo sono stati effettuati un numero limitato di studi, i quali però dimostrano la precedente ipotesi analizzando gli effetti della DBS sui diversi sintomi della malattia; in particolare la DBS ha effetti immediati (minuti o secondi) su sintomi quali tremore e rigidità, mentre agisce più lentamente (giorni o settimane) su manifestazioni cliniche quali l'instabilità posturale (41).

Ulteriore studio a sostegno dell'ipotesi di neuroplasticità indotta da DBS è stato fatto nel 2014 valutando un gruppo di pazienti sani con pazienti MP pre e post NST-DBS; in particolare è stata rilevata una modulazione della connettività strutturale a livello di aree sensorimotorie, prefrontali e limbiche a seguito di *long-term* DBS che ha portato come conseguenza anche ad un miglioramento clinico della malattia (42).

Uno studio effettuato da Okun nel 2012, ha riportato che la DBS agisca sulle strutture circondanti l'elettrodo andando ad inibire le cellule e ad eccitare le fibre, modulando anche l'attivazione di singoli neuroni a livello dei gangli della base. Inoltre, la stimolazione porta anche modifiche di sinapsi e una proliferazione delle cellule neurali staminali. Pertanto, si conclude che la DBS in acuto porta ad effetti locali nella rete cerebrale, che gradualmente andranno a coinvolgere aree sempre maggiori fino a portare ad una modulazione più globale (43).

7.4 LIMITAZIONI DELLO STUDIO

Il presente studio di tesi presenta alcune limitazioni.

Innanzitutto, sono stati considerati pazienti con MPa trattati con DBS bilaterale con target nel NST e nel GPi. Nonostante gli effetti positivi sui sintomi motori prodotti dalla neuromodulazione con DBS di entrambi i nuclei, è noto che tali strutture presentano connessioni diverse con la corteccia frontale. Questo rende la popolazione di studio disomogenea, mentre la numerosità ridotta dei sottogruppi non consente il confronto degli effetti della DBS del NST e del GPi.

Una delle principali limitazioni dello studio è rappresentato dal limitato periodo di *wash-out* della DBS, ovvero il tempo tra lo spegnimento della stimolazione e la valutazione clinica e neurofisiologica. Per la valutazione dei pazienti MPa nella condizione POST-DBS-OFF è stato infatti utilizzato un periodo di *wash-out* di circa 15 minuti. Tuttavia, è noto che alcuni sintomi motori e non motori possono risentire dell'effetto della stimolazione alcune ore dopo lo spegnimento della DBS. Questo non consente di escludere effetti residui della stimolazione sui dati clinici e neurofisiologici, specialmente rispetto al confronto con dati preoperatori (PRE-DBS) di ciascun paziente.

Inoltre, in tutti i pazienti, la terapia farmacologica dopaminergica è stata modificata dopo l'intervento chirurgico, non consentendo di escludere un possibile effetto dei farmaci nel confronto delle condizioni pre- e post-operatorie. Tuttavia, la riduzione della terapia orale dopo l'intervento DBS rappresenta uno standard clinico nei pazienti con MPa, che consente di migliorare la gravità delle complicanze motorie riducendo le fluttuazioni determinate dalla stimolazione pulsatile indotta dalla terapia orale con L-Dopa. In ultima analisi, questo consente di ottenere un miglioramento della qualità di vita dei pazienti, rappresentando un obiettivo terapeutico nei pazienti con MPa. Inoltre, l'ottimizzazione dei parametri di stimolazione richiede necessariamente una riduzione dei farmaci assunti dal paziente al fine di ridurre possibili effetti da iperstimolazione dopaminergica (ad es., discinesie, sintomi comportamentali). Tuttavia, è noto che la L-Dopa produce una riduzione dell'attività ipersincrona in banda β nei nuclei della base. Pertanto, un effetto atteso dalla riduzione della quantità di farmaci dopaminergici assunti sarebbe un aumento della connettività in banda di frequenza β dopo l'intervento rispetto alla valutazione preoperatoria. Al contrario, i nostri risultati mostrano una riduzione della FC in entrambe le sottobande β dopo l'intervento chirurgico.

In aggiunta per il presente studio è stata valutata una ridotta numerosità campionaria, che potrebbe limitare la generalizzazione delle conclusioni, soprattutto nella valutazione delle correlazioni clinico-neurofisiologiche. Pertanto, i risultati riportati andranno confermati su una popolazione più ampia di soggetti con MPa.

8. CONCLUSIONI

Nel presente studio è stata valutata la FC in diverse aree corticali, tramite HD-EEG in pazienti con MPa sottoposti ad impianto DBS. I risultati mostrano come i pazienti con MPa presentano una iperconnettività in banda di frequenza *low e high-β* in network distinti implicati nella fisiopatologia della MP e verosimilmente responsabili dei sintomi motori e non della malattia. Tuttavia, i risultati mostrano come l'iper-sincronizzazione in banda β si vada a ridurre dopo l'impianto della DBS, producendo sia un effetto cronico su network corticali in confronto con il periodo PRE-DBS, ma anche un effetto in acuto in seguito all'accensione della stimolazione.

Abbiamo quindi ipotizzato che l'aumento dell'attività in banda β sia una causa diffusa nella MP e che la DBS è in grado di sopprimerla a livello delle connessioni cortico-corticali portando anche ad un miglioramento clinico, con effetti sulla connettività neurale che potrebbero rispecchiare una riorganizzazione cerebrale plastica.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Neuroscienze.net. Il morbo di Parkinson: patogenesi, diagnosi e clinica. Neuroscienze.net [Internet].
2. Rothwell PM. Treatment of acute ischemic stroke: current perspectives. *Lancet*. 2024;403(10369):547-56.
3. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease. *JAMA* [Internet]. 2020 Feb 11;323(6):548
4. Alves G, Forsaa EB, Pedersen KF, Gjerstad MD, Larsen JP. Epidemiology of Parkinson's disease. *Journal of Neurology* [Internet]. 2008 Sep 1;255(S5):18–32.
5. Kouli A, Torsney KM, Kuan WL. Parkinson's Disease: etiology, neuropathology, and pathogenesis. In: Codon Publications eBooks [Internet]. 2018. p. 3–26.
6. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers* [Internet]. 2017 Mar 23;3(1).
7. Lanciego JL, Luquin N, Obeso JA. Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Dec 1;2(12):a009621. doi: 10.1101/cshperspect.a009621. PMID: 23071379; PMCID: PMC3543080
8. Witcher M, Moran RJ, Tatter SB, Laxton AW. Neuronal oscillations in Parkinson's disease. *Frontiers in Bioscience* [Internet]. 2014 Jan 1;19(8):1291.
9. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *Journal of Neurology Neurosurgery & Psychiatry* [Internet]. 2008 Apr 1;79(4):368–76
10. Troclea - Enciclopedia - Treccani [Internet]. Treccani.
11. Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* [Internet]. 2021 May 1;20(5):385–97.
12. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry* [Internet]. 2016 Jul 11;139(S1):318–24
13. Tardive dyskinesia [Internet]. PubMed. 2024.
14. Krack P, Volkmann J, Tinkhauser G, Deuschl G. Deep brain stimulation in Movement Disorders: From Experimental surgery to Evidence-Based therapy. *Movement Disorders* [Internet]. 2019 Oct 3;34(12):1795–810.

15. Krauss JK, Lipsman N, Aziz T, Boutet A, Brown P, Chang JW, et al. Technology of deep brain stimulation: current status and future directions. *Nature Reviews Neurology* [Internet]. 2020 Nov 26;17(2):75–87.
16. Past, Present, and Future of Deep Brain Stimulation: Hardware, Software, Imaging, Physiology and Novel Approaches Jessica Frey 1 , Jackson Cagle1 , Kara A. Johnson1 , Joshua K. Wong1 , Justin D. Hilliard2 , Christopher R. Butson1,2, Michael S. Okun1 and Coralie de Hemptinne1 * - Bing [Internet].
17. Krack P, Volkmann J, Tinkhauser G, Deuschl G. Deep brain stimulation in Movement Disorders: From Experimental surgery to Evidence-Based therapy. *Movement Disorders* [Internet]. 2019 Oct 3;34(12):1795–810.
18. Artusi CA, Lopiano L, Morgante F. Deep Brain Stimulation Selection Criteria for Parkinson’s Disease: Time to Go beyond CAPSIT-PD. *Journal of Clinical Medicine* [Internet]. 2020 Dec 4;9(12):3931.
19. Buri J, Burišova P, Pokorna A, Balaz M. Use of high-density EEG in patients with Parkinson’s disease treated with deep brain stimulation. *Biomedical Papers* [Internet]. 2020 Dec 15;164(4):366–70.
20. Stoyell SM, Wilmskoetter J, Dobrota MA, Chinappen DM, Bonilha L, Mintz M, et al. High-Density EEG in current clinical practice and opportunities for the future. *Journal of Clinical Neurophysiology* [Internet]. 2021 Mar 1;38(2):112–23.
21. Formaggio E., Tonellato M., Antonini A., Castiglia L., Gallo L., Manganotti P., 2021. Oscillatory EEG-TMS Reactivity in Parkinson’s Disease. *J Clinic Neurophysiology*; 40(3):263- 268.
22. Beniczky S, Schomer DL. Electroencephalography: basic biophysical and technological aspects important for clinical applications. *Epileptic Disorders* [Internet]. 2020 Dec 1;22(6):697–715
23. Electroencephalogram [Internet]. PubMed. 2024
24. Feyissa AM, Tatum WO. Adult EEG. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. 2019 Jan 1;103–24.
25. Piña-Fuentes D, Beudel M, Little S, Brown P, Oterdoom DLM, Van Dijk JMC. Adaptive deep brain stimulation as advanced Parkinson’s disease treatment (ADAPT study): protocol for a pseudo-randomised clinical study. *BMJ Open* [Internet]. 2019 Jun 1;9(6):e029652.:
26. Neumann WJ, Steiner LA, Milosevic L. Neurophysiological mechanisms of deep brain stimulation across spatiotemporal resolutions. *Brain* [Internet]. 2023 Jul 14;146(11):4456–68.

27. Foffani G, Alegre M. Brain oscillations and Parkinson disease. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. 2022 Jan 1;259–71
28. Oswal, A., Brown, P., & Litvak, V. (2013). Synchronized neural oscillations and the pathophysiology of Parkinson's disease: *Current Opinion in Neurology*, 26(6), 662–670.
29. Stefani A, Cerroni R, Mazzone P, Liguori C, Di Giovanni G, Pierantozzi M, et al. Mechanisms of action underlying the efficacy of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: central role of disease severity. *European Journal of Neuroscience* [Internet]. 2018 Aug 12;49(6):805–16.
30. Parkinson J. An essay on the shaking Palsy. *Journal of Neuropsychiatry* [Internet]. 2002 May 1;14(2):223–36.
31. Conti M, Stefani A, Bovenzi R, Cerroni R, Garasto E, Placidi F, et al. STN-DBS Induces Acute Changes in β -Band Cortical Functional Connectivity in Patients with Parkinson's Disease. *Brain Sciences* [Internet]. 2022 Nov 23;12(12):1606.
32. Kikuchi J, Ito K, Date Y. Environmental metabolomics with data science for investigating ecosystem homeostasis. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* [Internet]. 2018 Feb 1;104:56–88.
33. Yassine S, Gschwandtner U, Auffret M, Achard S, Verin M, Fuhr P, et al. Functional Brain Dysconnectivity in Parkinson's Disease: a 5-Year longitudinal study. *Movement Disorders* [Internet]. 2022 Apr 14;37(7):1444–53.
34. Conti M, Guerra A, Pierantozzi M, Bovenzi R, D'Onofrio V, Simonetta C, et al. Band-Specific Altered Cortical Connectivity in Early Parkinson's Disease and its Clinical Correlates. *Movement Disorders* [Internet]. 2023 Oct 20;38(12):2197–208.
35. Keller SM, Gschwandtner U, Meyer A, Chaturvedi M, Roth V, Fuhr P. Cognitive decline in Parkinson's disease is associated with reduced complexity of EEG at baseline. *Brain Communications* [Internet]. 2020 Jan 1;2(2).
36. Babiloni C, Lizio R, Marzano N, Capotosto P, Soricelli A, Triggiani AI, et al. Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms. *International Journal of Psychophysiology* [Internet]. 2015 Feb 7;103:88–102.
37. Babiloni C, Frisoni GB, Vecchio F, Pievani M, Geroldi C, De Carli C, et al. Global Functional Coupling of Resting EEG Rhythms is Related to White-Matter Lesions Along the Cholinergic Tracts in Subjects with Amnesic Mild Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer S Disease* [Internet]. 2010 Jan 28;19(3):859–71.

38. Babiloni C, Del Percio C, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Lopez S, et al. Abnormalities of functional cortical source connectivity of resting-state electroencephalographic alpha rhythms are similar in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy body diseases. *Neurobiology of Aging* [Internet]. 2019 Jan 24;77:112–27.
39. Muthuraman M, Bange M, Koirala N, Ciolac D, Pintea B, Glaser M, et al. Cross-frequency coupling between gamma oscillations and deep brain stimulation frequency in Parkinson's disease. *Brain* [Internet]. 2020 Aug 20;143(11):3393–407.
40. Prescott IA, Dostrovsky JO, Moro E, Hodaie M, Lozano AM, Hutchison WD. Levodopa enhances synaptic plasticity in the substantia nigra pars reticulata of Parkinson's disease patients. *Brain* [Internet]. 2008 Dec 2;132(2):309–18.
41. Yuan TF, Li WG, Zhang C, Wei H, Sun S, Xu NJ, et al. Targeting neuroplasticity in patients with neurodegenerative diseases using brain stimulation techniques. *Translational Neurodegeneration* [Internet]. 2020 Dec 1;9(1).
42. Van Hartevelt TJ, Cabral J, Deco G, Møller A, Green AL, Aziz TZ, et al. Neural plasticity in human brain connectivity: The effects of long term deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Jan 22;9(1):e86496.
43. Li Z, Liu C, Wang Q, Liang K, Han C, Qiao H, et al. Abnormal functional brain network in Parkinson's disease and the effect of acute deep brain stimulation. *Frontiers in Neurology* [Internet]. 2021 Oct 14;12.
44. Little S, Brown P. The functional role of beta oscillations in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* [Internet]. 2013 Nov 21;20:S44–8.
45. Brown P. Oscillatory nature of human basal ganglia activity: Relationship to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Movement Disorders* [Internet]. 2002 Dec 20;18(4):357–63.
46. Feldmann LK, Lofredi R, Neumann WJ, Al-Fatly B, Roediger J, Bahnert BH, et al. Toward therapeutic electrophysiology: beta-band suppression as a biomarker in chronic local field potential recordings. *Npj Parkinson S Disease* [Internet]. 2022 Apr 19;8(1).

