UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Biomediche

Corso di Laurea Triennale in Scienze Motorie

Tesi di Laurea

EFFETTI DELL'ESERCIZIO FISICO SULL'EPILESSIA NELL'ESSERE UMANO

Relatore: Dott. Franchi Martino

Laureando: Tasinato Gianluca

N° di matricola: 2047768

Anno Accademico 2024/2025

INDICE..... 2

ABSTRACT..... 3

INTRODUZIONE..... 3

CAPITOLO 1..... 5

Pre and post-endurance training mitigates the rat pilocarpine-induced status epilepticus and epileptogenesis-associated deleterious consequences..... 5

1.1 L'allenamento di resistenza e l'influenza sull'epilettogenesi..... 5

1.2 Metodologia sperimentale..... 6

1.3 Esecuzione del protocollo sperimentale..... 6

1.4 Risultati..... 7

1.5 Discussione risultati..... 8

CAPITOLO 2..... 9

Chronic exercise buffers the cognitive dysfunction and decreases the susceptibility to seizures in PTZ-treated rats..... 9

2.1 Esercizio cronico ed effetti sulla suscettibilità alle crisi epilettiche..... 9

2.2 Modelli animali ed epilessia..... 9

2.3 Sistema GABAergico ed epilessia..... 9

2.4 Metodologia sperimentale..... 9

2.5 Esecuzione del protocollo sperimentale..... 10

2.6 Risultati..... 10

2.7 Discussione risultati....13

CAPITOLO 3....14

The effect of exercise on GABA signaling pathway in the model of chemically induced seizures....14

3.1 Effetto dell'esercizio sul percorso di segnalazione GABA....14

3.2 Sintesi di GABA ed impatto dell'attività fisica....14

3.3 Metodologia sperimentale....15

3.4 Esecuzione del protocollo sperimentale....15

3.5 Risultati....16

3.6 Discussione risultati....18

CAPITOLO 4....19

Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures....19

4.1 Effetto dell'esercizio fisico sui processi infiammatori alla base dell'epilessia....19

4.2 Metodologia sperimentale....19

4.3 Esecuzione del protocollo sperimentale....20

4.4 Risultati....20

4.5 Discussione risultati....22

CAPITOLO 5....23

Effects of an exercise program on health of people with epilepsy: a randomized clinical trial....23

5.1 Impatto di un programma di esercizi sulla salute dei pazienti epilettici....23

5.2 Metodologia sperimentale..... 24

5.3 Esecuzione del protocollo sperimentale.....24

5.3.1 Misure fisiche.....24

5.3.2 Programma di allenamento..... 24

5.4 Risultati.....25

5.5 Discussione risultati.....26

DISCUSSIONE GENERALE.....27

CONCLUSIONI.....29

BIBLIOGRAFIA.....30

ABSTRACT

L'epilessia è una malattia che agisce a livello cerebrale principalmente nella zona corticale ed è causata da un'elevata ipereccitabilità a livello neuronale e da neuroinfiammazione. Si esprime attraverso convulsioni dei segmenti corporei e può causare danni a livello fisico e nei casi più gravi è fortemente invalidante, precludendo uno stile di vita normale. Questa patologia, oltre ad impattare a livello fisico, agisce anche a livello cognitivo portando a condizioni ulteriori come ansia, stress, depressione. L'epilessia, in diverse culture, è soggetta ad un forte stigma sociale che porta chi ne soffre a non poter vivere la propria vita pienamente. In particolare, in ambito sportivo, si è sempre ritenuta l'epilessia un forte vincolo per una piena partecipazione all'attività fisica, perché considerata dagli esperti una possibile minaccia per l'incolumità dei soggetti epilettici, in quanto ritenevano che l'attività fisica avrebbe potuto aggravare tale condizione. Tuttavia, il pensiero corrente vede nell'esercizio fisico una possibile fonte benefica per i soggetti epilettici in quanto, come evidenziato in diversi studi, l'esercizio potrebbe impattare sull'epilessia migliorando lo stimolo inibitorio a livello sinaptico ed al tempo stesso ridurrebbe le citochine causa dell'infiammazione neuronale a livello cerebrale, portando così ad un miglioramento delle condizioni generali dei pazienti epilettici, diminuendo la gravità delle crisi ed aumentando il lasso di tempo tra una crisi e la successiva.

INTRODUZIONE

L'epilessia è una patologia cerebrale, una tra le più gravi e comuni, che secondo le ultime pubblicazioni colpisce circa l'1% della popolazione mondiale.(Thijs et al., 2019). Questo disturbo è caratterizzato dal fatto di presentare una predisposizione costante a generare crisi epilettiche spontanee ed è caratterizzata da molteplici conseguenze a livello neurobiologico, cognitivo e psicosociale.(Thijs et al., 2019). La sintomatologia epilettica si presenta in varie forme e ciò ci consente di classificare in modo corretto i vari modelli di questa malattia che si manifestano nei soggetti colpiti, in quanto non esiste una sola tipologia di epilessia. Le cause scatenanti sono divise in 6 categorie: genetica, strutturale, metabolica, infettiva, immunitaria e sconosciuta. Le tipologie di crisi sono a loro volta classificate in base all'esordio come focali, generalizzate o sconosciute.(Thijs et al., 2019)

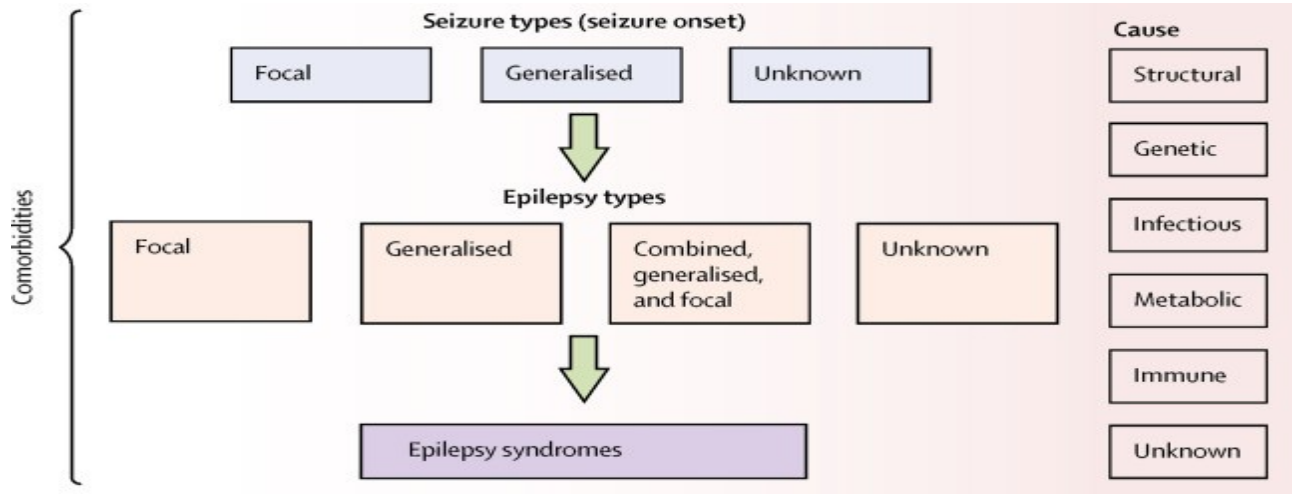

Figura 0 (Thijs et al., 2019)

I meccanismi fisiologici alla base delle crisi epilettiche sono oggetto di numerosi studi, i quali cercano di individuare i perché di tali fenomeni. Col termine “epilettogenesi” ci si riferisce al procedimento di trasformazione attraverso il quale un encefalo non epilettico tramuta in uno capace di generare crisi spontanee ricorrenti.(Fisher et al., 2005; Pitkänen & Engel, 2014; Thijs et al., 2019) Tale processo è definito come il risultato di uno sbilancio tra attività eccitatoria ed inibitoria all’interno della rete neuronale, con una conseguente attività eccessiva ed oscillatoria della stessa che porta ad un'interruzione della consueta elaborazione neuronale.(Fisher et al., 2005; Thijs et al., 2019) Secondo diversi studi, le crisi deriverebbero in gran parte da un’attività anomala nei neuroni corticali, benché le cellule gliali e gli assoni nella sostanza bianca potrebbero essere coinvolti in maniera secondaria; la maggior parte delle informazioni riguardo gli insulti epilettici derivano da modelli animali che coinvolgono un insulto cerebrale che promuove l’epilettogenesi, mediante stimolazioni chimiche ed elettriche pro convulsivanti.(Sarkisian, 2001; Thijs et al., 2019)(Cellular mechanisms of the epilepsies- RS, Fisher, A.Hopkins, S.Shorvon, G.Cascino (Eds), Epilepsy(2nd edn.), Chapman & Hall, London(1995), pp.35-38). Diverse pubblicazioni ritengono che il danno cerebrale iniziale causi un deficit di cellule ippocampali, fenomeno che anticipa una successiva germinazione assonale e una riorganizzazione del sistema sinaptico, che andrebbero ad intaccare l’equilibrio tra eccitazione ed inibizione. (Cellular mechanisms of the epilepsies- RS, Fisher, A.Hopkins, S.Shorvon, G.Cascino (Eds), Epilepsy(2nd edn.), Chapman & Hall, London(1995), pp.35-38).(Kobow et al., 2012; Thijs et al., 2019). Ulteriori fattori che potrebbero essere alle origini dell’epilessia e pertanto possibili bersagli per terapie farmacologiche sono ad esempio l’accumulo di proteine neurodegenerative come la beta-amiloide che può bloccare la trasmissione dei segnali delle sinapsi tra una cellula e l’altra, i processi pro infiammatori come l’interleuchina 1-beta e TGF-beta, la neurogenesi(processo di formazione di nuove cellule nervose) ed infine i cambiamenti nel voltaggio neuronale e nei canali ionici ligando-dipendenti, cioè canali interagenti con neurotrasmettitori come GABA e glicina. (Cellular mechanisms of the epilepsies- RS, Fisher, A.Hopkins, S.Shorvon, G.Cascino (Eds), Epilepsy(2nd edn.), Chapman & Hall, London (1995), pp.35-38). (Kobow et al., 2012; Thijs et al., 2019).

. L’epilessia è una condizione di cui per lungo tempo non si è voluto parlare e verso la quale non è stata prestata sufficiente attenzione, contribuendo ad aggravarne lo stigma sociale. Tutto ciò ha avuto anche effetti che sono ricaduti su un aspetto apparentemente secondario come la partecipazione alla pratica sportiva. Tradizionalmente le persone con epilessia sono sempre state disincentivate a partecipare all’ attività sportiva a causa di scarsa informazione e timore di possibili incidenti. (Carter & McGrew, 2021). Tuttavia questo atteggiamento ha causato un peggioramento dei pregiudizi verso tale sindrome e ha negato alle persone epilettiche di godere dei miglioramenti fisio-psicologici garantiti dall’attività fisica, evidenziati da opere scientifiche che segnalavano una riduzione della frequenza e della gravità delle crisi. (Carter & McGrew, 2021). Per lungo tempo si è dibattuto sulla possibilità per l’esercizio di essere una terapia non farmacologica benefica in quanto si ritiene che aumenti i livelli circolanti di calcio, stimoli la produzione di dopamina, un

neurotrasmettitore, e regoli diverse funzioni cerebrali.(Cavalcante et al., 2021; Sutoo & Akiyama, 2003).In aggiunta a quanto sopra citato, l'esercizio sembrerebbe impattare sulla produzione di meccanismi antiossidanti(Cavalcante et al., 2021; Freitas et al., 2019; Melo et al., 2019) ed antinfiammatori che intervengono nel meccanismo di neuro protezione (Cavalcante et al., 2021; De Sousa et al., 2022; Ignácio et al., 2019).

Questo progetto di tesi, tramite l'utilizzo della più recente letteratura scientifica, si pone l'obiettivo di cercare di approfondire e chiarire gli effetti dell'esercizio sull'epilessia nell'essere umano ponendo particolare enfasi sugli aspetti fisiologici alla base di tale condizione, provando a determinare se una pratica sportiva regolare possa avere risvolti positivi, nulli od eventualmente anche negativi per ciò che concerne la sintomatologia epilettica.

CAPITOLO 1

Pre and post-endurance training mitigates the rat pilocarpine-induced status epilepticus and epileptogenesis-associated deleterious consequences (Shishmanova-Doseva et al., 2022., International Journal of Molecular Sciences)

Open Access Article

Pre- and Post-Endurance Training Mitigates the Rat Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Epileptogenesis-Associated Deleterious Consequences

by Michaela Shishmanova-Doseva [1,*], Katerina Georgieva [2], Yordanka Uzunova [3,4], Lyubka Ioanidu [3], Milena Atanasova [5], Zlatina Nenchovska [6] and Jana Tchekalarova [6,*]

1 Department of Pharmacology, Toxicology and Pharmacotherapy, Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv, 15A Vassil Aprilov Blvd, 4002 Plovdiv, Bulgaria
2 Department of Physiology, Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv, 15A Vassil Aprilov Blvd, 4002 Plovdiv, Bulgaria
3 Department of Bioorganic Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv, 15A Vassil Aprilov Blvd, 4002 Plovdiv, Bulgaria
4 Research Institute, Medical University of Plovdiv, 15A Vassil Aprilov Blvd, 4002 Plovdiv, Bulgaria
5 Department of Biology, Medical University of Pleven, 5800 Pleven, Bulgaria
6 Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences (BAS), 1113 Sofia, Bulgaria
* Authors to whom correspondence should be addressed.

Int. J. Mol. Sci. **2022**, *23*(21), 13188; https://doi.org/10.3390/ijms232113188

1.1 L'allenamento di resistenza e l'influenza sull'epilettogenesi

Il seguente capitolo ha lo scopo di valutare in che modo un programma di allenamenti di resistenza ha impattato sullo sviluppo dell'epilettogenesi e sulle conseguenze deleterie associate a tale meccanismo.

In tale contesto uno dei lavori scientifici di punta è quello pubblicato da Michaela Shishmasova-Doseva et al., il cui obiettivo era di valutare le conseguenze dell'allenamento di resistenza, eseguito prima e dopo l'iniezione di pilocarpina, sull'entità dello stato epilettico e il suo legame con le conseguenze dannose

dell'epilettogenesi durante la fase epilettica cronica(Shishmanova-Doseva et al., 2022). La spinta motrice alla base di tale esperimento era quella di cercare di verificare il concetto secondo per cui un'attività fisica regolare, oltre a ridurre la frequenza delle crisi, diminuisce la suscettibilità ad esse e la soglia critica, ritardando ulteriormente lo sviluppo dell'accensione dell'amigdala (Arida et al., 1998; Capovilla et al., 2016; de Lima et al., 2011; Shishmanova-Doseva et al., 2022). A supporto di tale sforzo scientifico c'erano i risultati di ulteriori studi recenti, i quali rivelavano un aumento di neurotrofine, un'inibizione della morte cellulare fisiologicamente indotta e una regolazione di alcuni sistemi neurotrasmettitoriali, come quello glutamatergico.(Chaouloff, 1989; Dunn et al., 1996; Holmes et al., 2015; Shishmanova-Doseva et al., 2018, 2022)

1.2 Metodologia sperimentale

Per l'eseguimento di questo studio, basato su un modello animale, sono stati presi in considerazione 52 ratti adulti Wistar, posti in condizioni ambientali standardizzate(Shishmanova-Doseva et al., 2022). Per quanto riguarda il protocollo di allenamento, è stata scelta una tipologia di pratica aerobica.

1.3 Esecuzione del protocollo sperimentale

I ratti selezionati sono stati suddivisi in modo casuale in 2 gruppi; sedentari ed esercitati. I ratti esercitati sono stati allenati su un treadmill per 5 giorni alla settimana con una velocità stimata di 16m/min, per 4 settimane (Georgieva & Boyadjiev, 2004; Shishmanova-Doseva et al., 2019, 2022). Il tempo della corsa per i ratti esercitati era incrementale, partendo da 20min il primo giorno e aumentava di 5min al giorno per arrivare ad un totale di 40. I ratti sedentari non sono stati fatti correre ma sono stati posizionati sul tapis per sperimentare stimoli stressanti simili ai ratti sottoposti a stimolo allenante.(Radahmadi et al., 2013; Shishmanova-Doseva et al., 2022).In seguito ad un mese di corsa, lo stato epilettico è stato indotto tramite iniezione di pilocarpina (1 dose=320mg/kg) in tutti i ratti allenati e in metà dei sedentari e successivamente

gli animali sono stati ridistribuiti in 3 gruppi(n=16): 1-gruppo di controllo(C-sed); 2- ratti sedentari stimolati con pilocarpina (Pilo-sed); 3-ratti esercitati stimolati con pilocarpina (Pilo-ex).(Shishmanova-Doseva et al., 2022). Nella parte finale del protocollo di allenamento, i ratti hanno ripreso la corsa sul treadmill(velocità= 8m/min per 10 minuti; aumento graduale nei 10 giorni successivi fino ad una velocità di 16m/min per 40min). Infine 8 ratti per gruppo sono stati decapitati per valutare i marcatori dello stress ossidativo. (Shishmanova-Doseva et al., 2022).

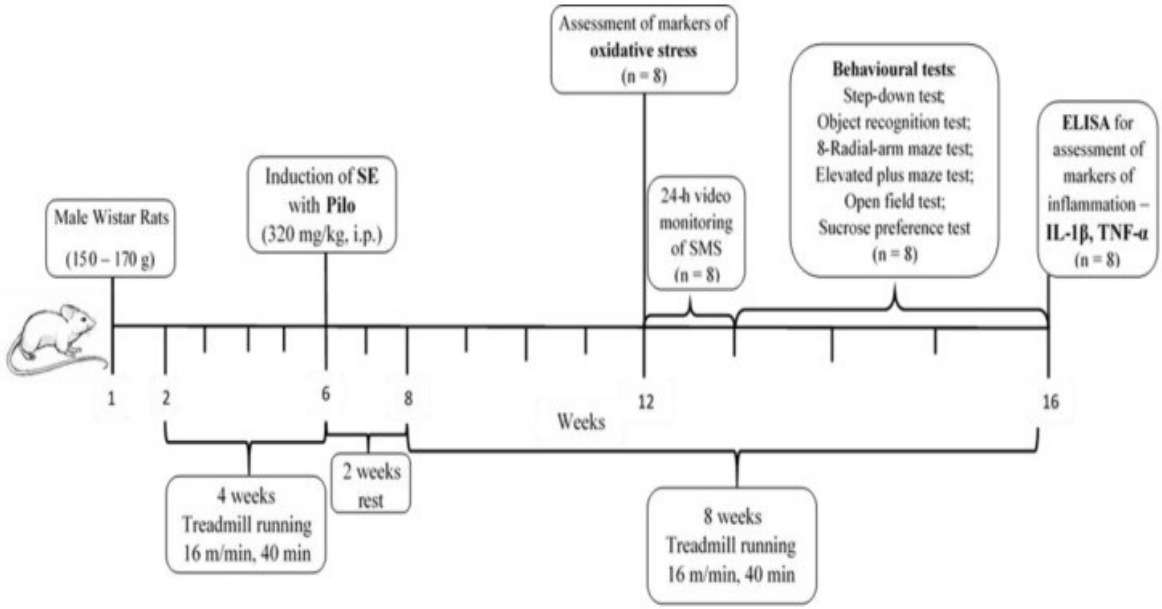

Figura n.1

(Shishmanova-Doseva et al., 2022)

1.4 Risultati

Successivamente all'iniezione di una dose di pilocarpina, in tutti i ratti non esercitati sono state riscontrate convulsione motorie corrispondenti agli stadi IV e V della scala di Racine(una scala di valutazione della progressione dello stato epilettico) mentre soltanto 7 ratti(44%) del gruppo sottoposto a sforzo allenante hanno raggiunto tale condizione, presentando tuttalpiù caratteristiche motorie riconducenti ai gradi I e II della sopracitata scala, come ad esempio movimenti della bocca.(Shishmanova-Doseva et al., 2022). Questi dati raccolti hanno portato gli studiosi a sostenere che l'allenamento di resistenza, applicato prima e dopo lo stato epilettico, avesse attenuato l'SE indotto da pilocarpina nel ratto.

Oltre questo risultato, l'analisi degli encefali dei ratti decapitati ha dimostrato un effetto primario e positivo dell'esercizio sull'attività della superossido dismutasi(SOD) nell'ippocampo. L'SOD è un antiossidante che agisce diminuendo lo stress ossidativo all'interno dell'organismo, neutralizzando il superossido, una specie reattiva dell'ossigeno.(Shishmanova-Doseva et al., 2022). In particolare, gli animali del gruppo Pilo-sed presentavano un'attività enzimatica inferiore rispetto ai gruppi Pilo-ex e C-sed.(Shishmanova-Doseva et al., 2022)

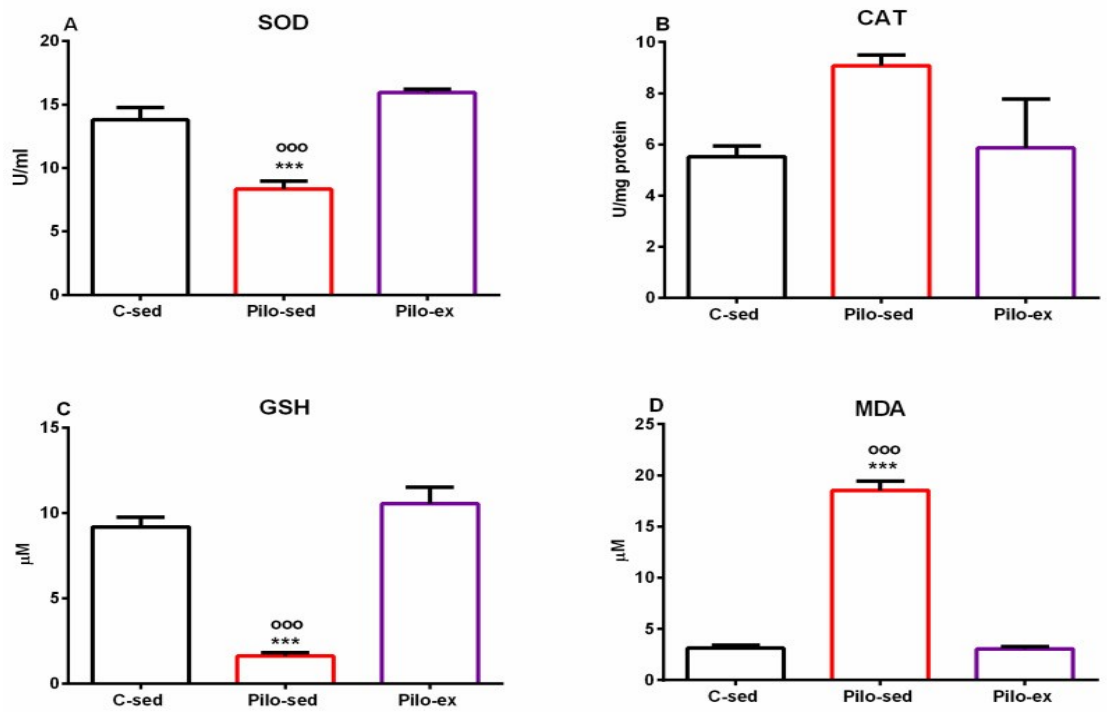

Figura n.1.1

(Shishmanova-Doseva et al., 2022)

Ulteriori approfondimenti hanno riscontrato un notevole aumento dei livelli di IL-1 beta, una citochina pro-infiammatoria, nell'ippocampo dei ratti sedentari stimolati con pilocarpina. Al contrario, il gruppo di ratti allenati mostrava una predisposizione a livelli più bassi di questa molecola, suggerendo un effetto benefico portato dall'esercizio in rapporto al processo di infiammazione. Al tempo stesso, i ratti del gruppo Pilo-sed presentavano livelli più alti di fattore di necrosi tumorale (TNF-alfa) rispetto agli altri 2 gruppi presi in esame, supportando l'ipotesi di un beneficio indotto dall'attività fisica.(Shishmanova-Doseva et al., 2022).

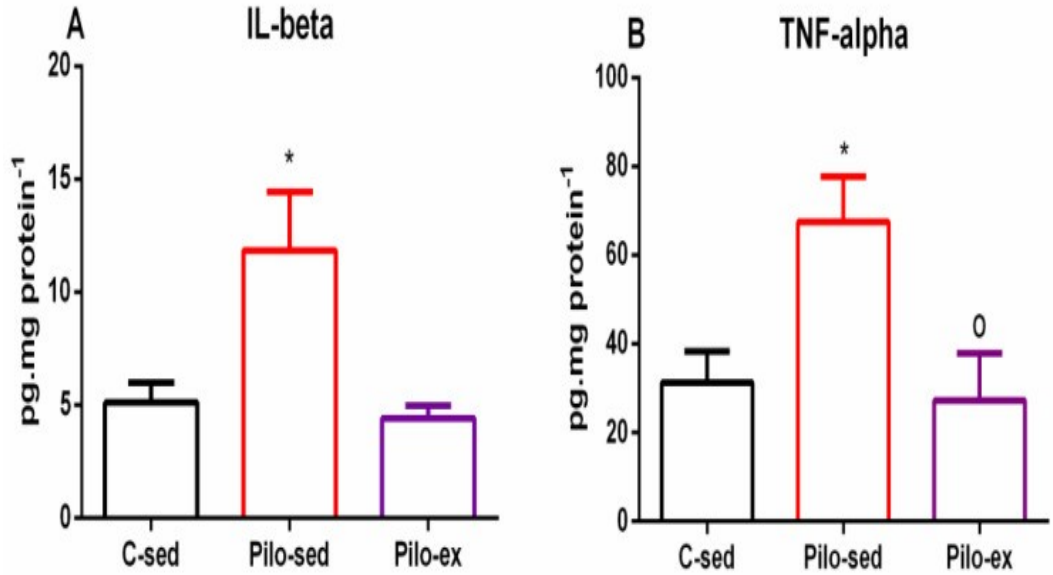

Figura n.1.2

(Shishmanova-Doseva et al., 2022)

1.5 Discussione risultati

In base a quanto detto, questo studio ha rilevato come l'allenamento di resistenza, applicato precedentemente al trattamento con Pilo, abbia soppresso l'insorgenza dello stato epilettico indotto da

convulsioni in più della metà dei ratti, mitigando la progressione verso tale condizione nei restanti animali (Shishmanova-Doseva et al., 2022). Come è ben risaputo, l'encefalo è estremamente sensibile alla produzione di radicali liberi, a causa dello stress ossidativo e della presenza di molteplici processi metabolici aerobici (Shishmanova-Doseva et al., 2022). L'esperimento ha dimostrato che l'attività epilettica incrementava tale stress, a causa di una ridotta attività di SOD e GSH, agenti antiossidanti, e a una elevata presenza di MDA, un indicatore dello stress ossidativo, nell'ippocampo. (Shishmanova-Doseva et al., 2022). I dati presenti nella figura n.1.1 suggeriscono come l'allenamento aerobico a lungo termine durante l'epilettogenesi abbia ricalibrato i livelli di SOD e GSH, riducendo lo stress ossidativo e inducendo un effetto benefico (Shishmanova-Doseva et al., 2022) diminuendo l'attività epilettiforme. Inoltre, nonostante l'effetto dell'esercizio aerobico sull'infiammazione sia ancora in fase esplorativa, questa ricerca ha messo in luce l'effetto dell'epilettogenesi nella produzione di citochine pro-infiammatorie, come TNF-alfa e IL-1beta. Tuttavia, si nota come l'esercizio aerobico eseguito in questo esperimento abbia avuto un significativo effetto antinfiammatorio, diminuendo i livelli di tali citochine a livello ippocampale, andando a beneficiare sulla sintomatologia epilettica (Shishmanova-Doseva et al., 2022).

CAPITOLO 2

Chronic exercise buffers the cognitive dysfunction and decreases the susceptibility to seizures in PTZ-treated rats (Lin et al., 2019., Epilepsy & Behavior)

ELSEVIER

Epilepsy & Behavior
Volume 98, Part A, September 2019, Pages 173-187

Chronic exercise buffers the cognitive dysfunction and decreases the susceptibility to seizures in PTZ-treated rats

Xiao-Ying Lin [a], Ying Cui [b], Lei Wang [c], Wen Chen [d]

[a] School of Medicine, Shandong University, Jinan, Shandong 250013, China
[b] Department of Endocrinology, Jinan Central Hospital, Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250013, China
[c] Department of Cardiology, Jinan Central Hospital, Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250013, China
[d] Department of Neurology, Jinan Central Hospital, Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250013, China

2.1 Esercizio cronico ed effetti sulla suscettibilità alle crisi epilettiche

In questo secondo capitolo, tramite l'utilizzo di un nuovo studio basato su un modello animale diverso da quello descritto nel Capitolo 1, si andranno ad analizzare e ad integrare i risultati riguardanti l'effetto dell'esercizio cronico sulla suscettibilità alle crisi epilettiche.

2.2 Modelli animali ed epilessia

L'insufficiente letteratura scientifica basata su modelli comprendenti gli esseri umani è causata da una eccessiva reticenza da parte di questi ultimi a praticare attività sportiva, fenomeno causato dalla paura di incorrere in lesioni o in peggioramenti della condizione epilettica. Perciò, come già accennato nell'introduzione di questo progetto di tesi, la maggior parte delle informazioni sull'epilessia in ambito sperimentale derivano da modelli animali sopposti a stimolazioni pro-convulsivanti. Alcuni di questi studi, principalmente svolti sui ratti, hanno mostrato che l'esercizio ha generato effetti benefici sulla frequenza e sulla serietà delle crisi epilettiche ((Arida et al., 2010; Lin et al., 2019; Tutkun et al., 2010).

2.3 Sistema GABAergico ed epilessia

Tramite diverse pubblicazioni scientifiche, è stato provato che un mal funzionamento del sistema GABAergico ricopre un ruolo chiave nell'epilessia e nell'epilettogenesi ed è da considerare perciò un meccanismo epilettico primario ((Chun et al., 2019; Lin et al., 2019; Szyndler et al., 2018; Treiman, 2001). In aggiunta è stata comprovato che una modifica dei recettori GABAa interviene nell'inibizione GABAergica ed è perciò accostata all'epilessia(Haerian et al., 2016; Lin et al., 2019; Reinthaler et al., 2015) mentre al contempo un aumento del quantitativo di GABA e un'attivazione di tali recettori hanno comportato effetti positivi in merito all'insorgere dell'epilessia(Lin et al., 2019; Tang et al., 2017). Partendo da tali evidenze, lo studio svolto da Lin et al., 2019; ipotizzava che lo svolgimento di esercizio fisico regolare impattasse in maniera benefica sulla suscettibilità alle crisi convulsive mediante una regolarizzazione della plasticità sinaptica dell'ippocampo e del sistema GABAergico. Ulteriore scopo di tale studio era verificare se la plasticità sinaptica ippocampale e la funzione GABAergica mediassero gli effetti di inversione dell'esercizio fisico sulle crisi indotte da pentilentetrazolo (Lin et al., 2019).

2.4 Metodologia sperimentale

Nel qui presente studio, sono stati presi in considerazione per l'esperimento ratti Sprague-Dawley maschi; temperatura costante (23±2 gradi centigradi); libero accesso a cibo e acqua.(Lin et al., 2019). Come attività allenante, è stato scelto un protocollo misto con alcuni animali allenati in piscina ed altri fatti correre su una ruota.(Lin et al., 2019). L'esperimento aveva una durata di 36 giorni.

2.5 Esecuzione del protocollo sperimentale

I ratti, per tutta la durata dell'esperimento, sono stati trattati con pentilentetrazolo. A partire dal sedicesimo giorno dell'esperimento, i topi sono stati divisi in 3 gruppi per svolgere il protocollo di esercizi previsto e prima di iniziare l'allenamento i ratti sono stati privati del cibo per 12 ore. Il primo gruppo è stato sottoposto a 15 minuti di nuoto, attività iniziata 30 minuti prima di ogni iniezione di PTZ (35mg/kg). Il PTZ è un antagonista non competitivo dei recettori di GABAa ed è ampiamente utilizzato per riprodurre l'epilessia nei modelli animali(Lin et al., 2019; Walker, 2015). Il secondo gruppo ha eseguito 30 minuti di corsa su una ruota, pratica anch'essa eseguita 30 minuti prima del trattamento con PTZ. Infine, troviamo un gruppo di controllo a cui è stata iniettata soluzione salina. All'interno di questo lavoro si sono volute trattare 4 variabili per valutare l'attività delle crisi epilettiche causate da PTZ: 1- latenza delle crisi(s); 2-durata dell'insorgenza delle crisi minori(s); durata dell'insorgenza delle crisi maggiori(s); 4- punteggi per la gravità delle crisi 1 ora dopo l'iniezione di PTZ(Lin et al., 2019). Col termine crisi minori ci si riferisce a spasmi mioclonici isolati accompagnati da movimenti facciali e della parte superiore del corpo; si parla di crisi maggiori in caso di perdita del riflesso flessorio tonico successiva a una crisi prolungata(Lin et al., 2019; Mares et al., 1990). All' interno del lavoro è stato inoltre utilizzata la bicucullina, antagonista dei recettori GABAa, per esplorare gli effetti di inversione dell'esercizio fisico sulla sintomatologia epilettica(Lin et al., 2019).

2.6 Risultati

I risultati dei benefici degli esercizi di corsa e nuoto sulle crisi indotte da PTZ sono stati valutati mediante due distinti 4 gruppi di ratti, secondo il seguente disegno fattoriale:(trattamento: gruppo veicolo e gruppo PTZ) X (esercizio: no corsa/no nuoto e corsa/nuoto).

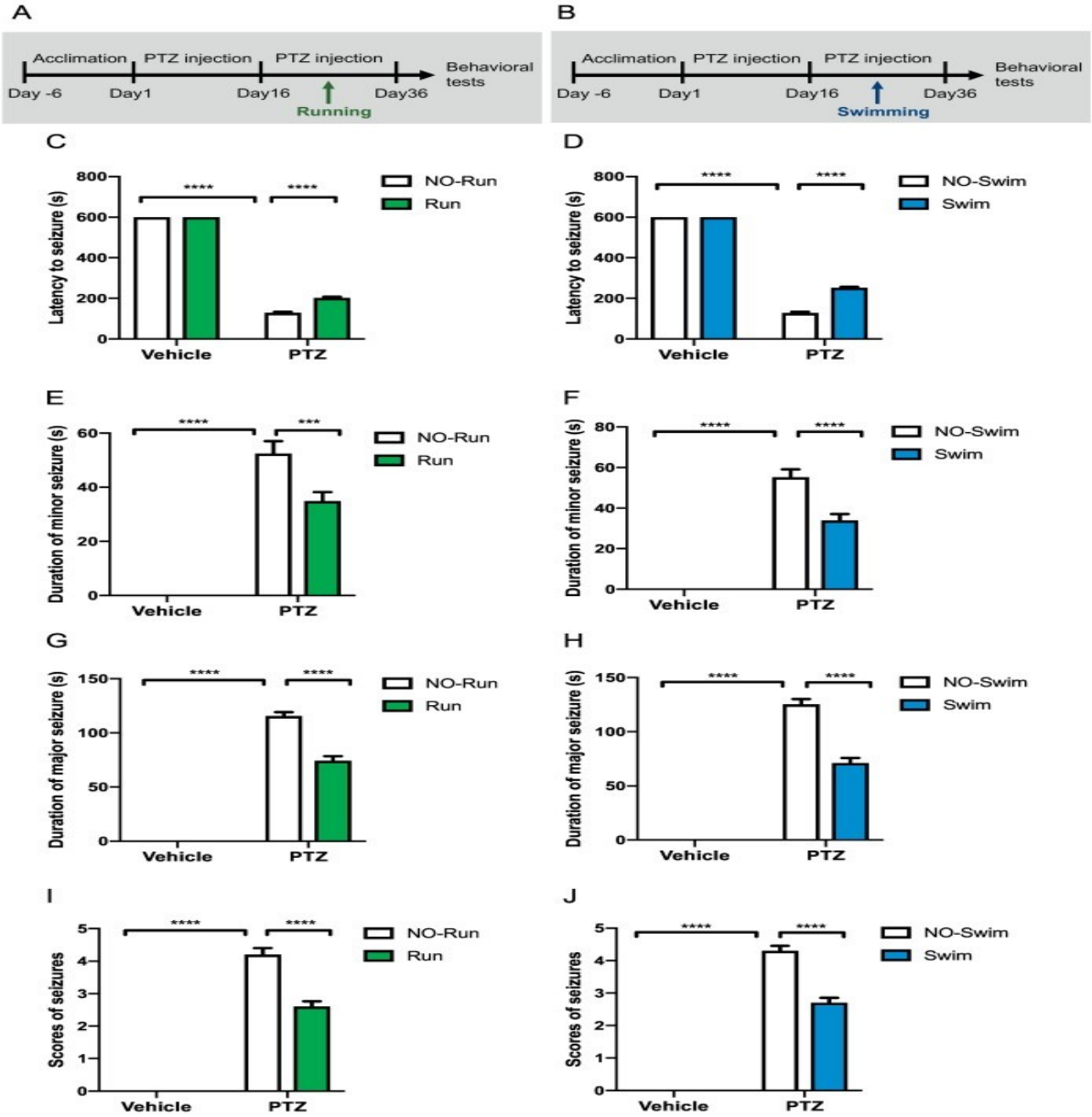

Figura n.2

(Lin et al., 2019)

Se i risultati della latenza nei gruppi veicolo non sono cambiati indipendentemente dalla pratica o meno di esercizio, suggerendo nessun sintomo di crisi, è stato al tempo stesso notato come la corsa e il nuoto avessero significativamente alzato la latenza alle crisi rispetto agli animali non esercitati per quanto riguarda i ratti trattati con PTZ (vedasi tabelle C e D della figura n.2) rafforzando l'ipotesi di un effetto positivo della pratica aerobica.(Lin et al., 2019). Approfondendo l'analisi dei risultati esposti nei grafici presenti nella Figura n.2, è stato riscontrato che nei gruppi veicolo la durata delle crisi minori e maggiori e i punteggi delle crisi si attestavano a valore 0, lasciando intendere una non induzione di crisi rispetto ai gruppi PTZ. Nonostante ciò, corsa e nuoto avevano invertito in maniera considerevole tali comportamenti rispetto ai ratti non allenati, per quanto concerne i gruppi PTZ (vedasi tabelle E-J)(Lin et al., 2019) lasciando intendere il possibile potenziale dell'esercizio cronico di ridurre le crisi indotte da PTZ(Lin et al., 2019).

Ulteriore punto di interesse dello studio scientifico è stato l'analisi dei livelli ippocampali dei recettori GAD67 e GABAa, in quanto è risaputo che un'alterazione dei livelli di suddetti recettori, mediata dal

sistema GABAergico, innesca lo stato epilettico(Lin et al., 2019). A tal proposito, le analisi conclusive hanno evidenziato che la cronica iniezione di PTZ ha diminuito sostanzialmente i livelli di GAD67 e GABAa ippocampali nei ratti non allenati del gruppo PTZ rispetto al gruppo del veicolo. Nononostante ciò, si è notato che la somministrazione di esercizio fisico cronico aveva rialzato tali livelli nel gruppo PTZ, suggerendo un effetto positivo dell'esercizio. (vedasi immagini C-F della figura n.2.1)(Lin et al., 2019).

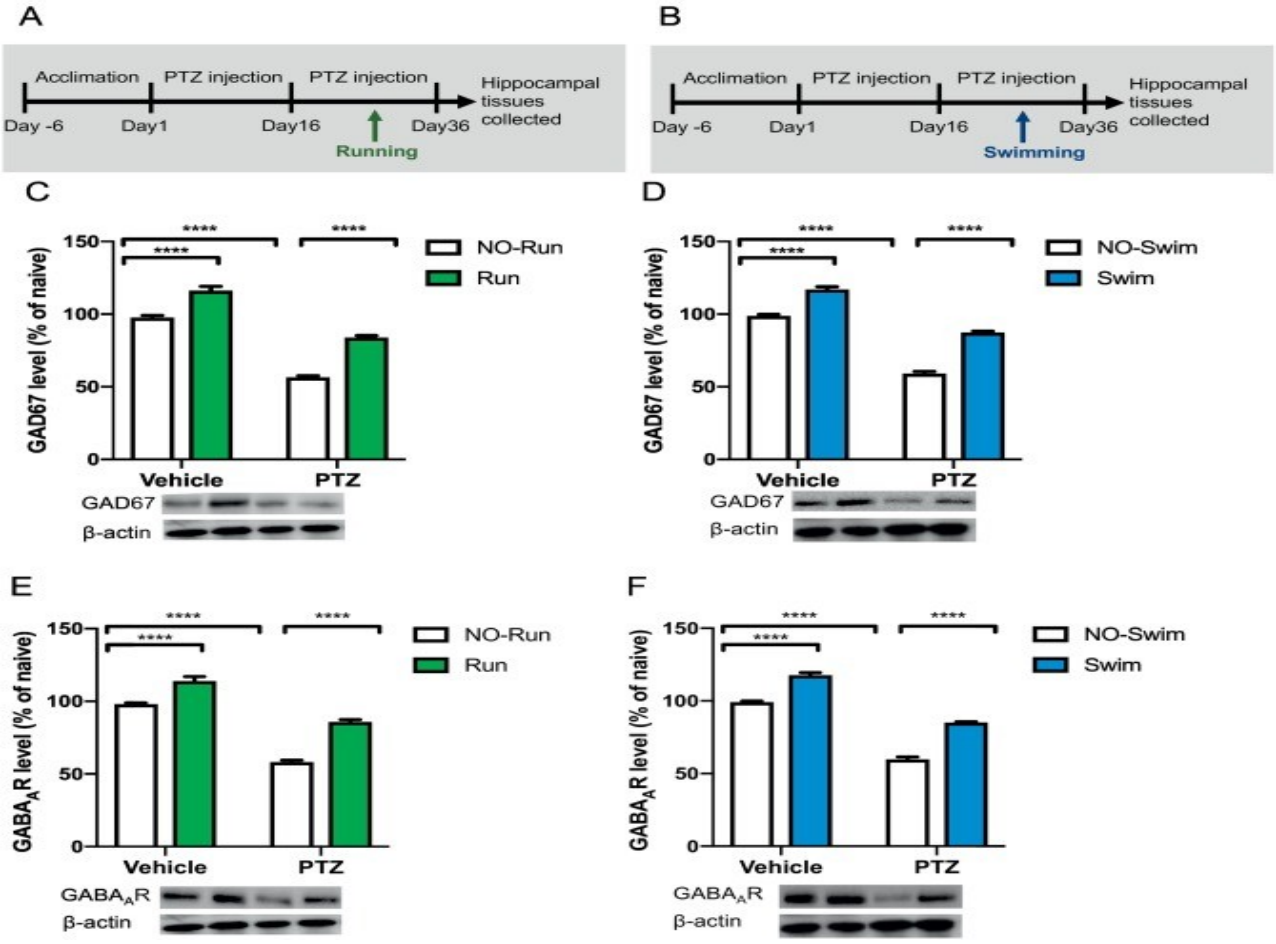

Figura n.2.1 **(Lin et al., 2019)**

Come menzionato al paragrafo 2.3, scopo ulteriore di tale studio era dimostrare se la funzione GABAergica riuscisse a mediare gli effetti d'inversione dell'attività fisica sulle crisi indotte da PTZ. Per far ciò, l'antagonista di GABAa, chiamato bicucullina, è stato introdotto nell'ippocampo 30 minuti prima del protocollo allenante durante la somministrazione di PTZ.

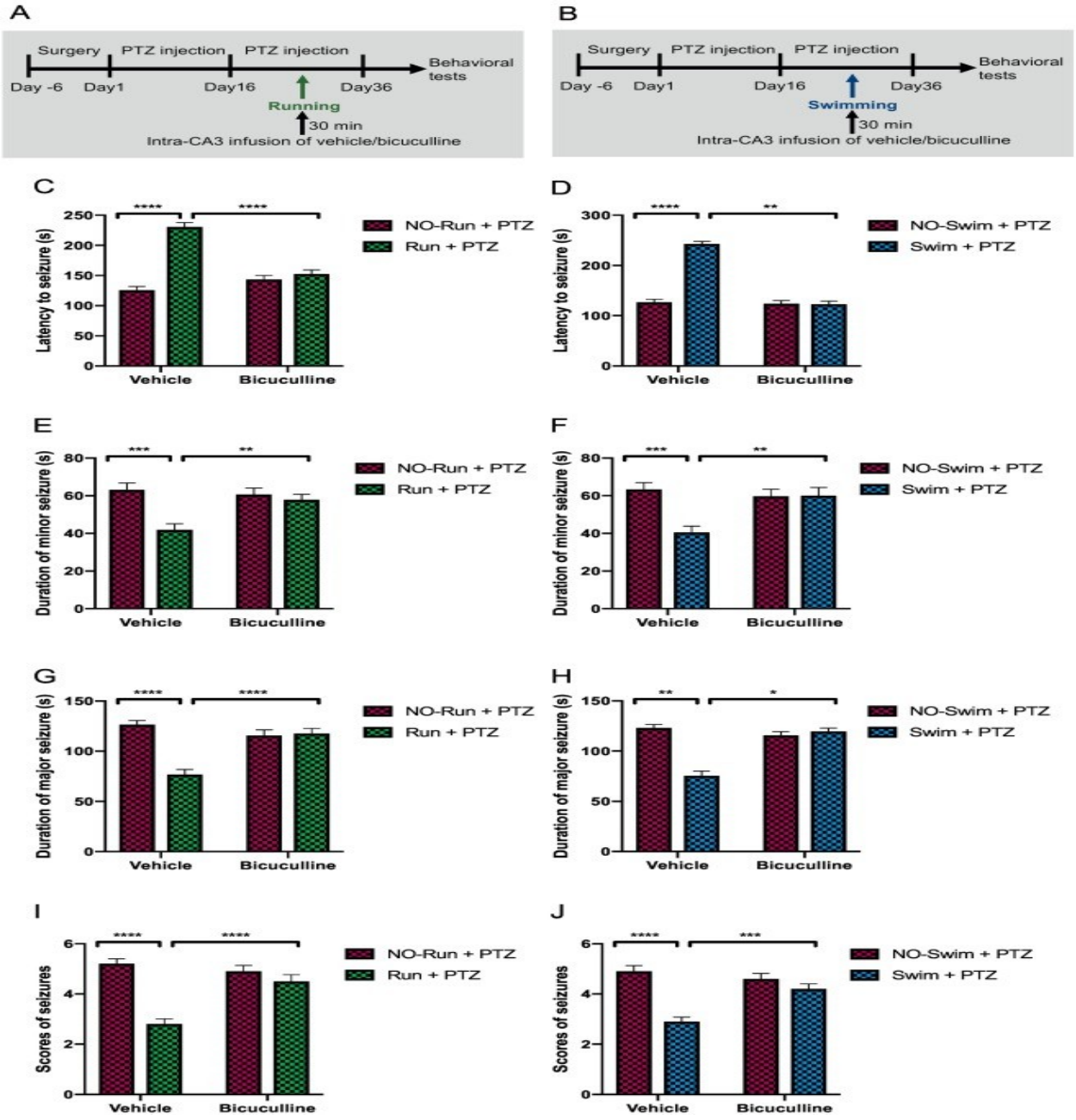

Figura n.2.2 **(Lin et al., 2019)**

Come evidenziato nella figura n.2.2, il pretrattamento con bicucullina ha attenuato i benefici indotti dall'esercizio nelle crisi causate da pentilentetrazolo sia nei gruppi di corridori che di nuotatori per quanto riguarda le variabili di latenza delle crisi (immagini C e D), durata crisi minori (immagini E ed F), durata crisi maggiori (immagini G e H) e punteggi delle crisi (immagini I e J).(Lin et al., 2019).

2.7 Discussione risultati

Questo secondo studio, come indicato nei risultati, ha evidenziato che l'attività fisica cronica ha prodotto una notevole riduzione della frequenza delle crisi della durata delle stesse nei ratti trattati con PTZ. Al tempo stesso PTZ ha diminuito i livelli di GABAa e GAD67 nei ratti, effetto invertito da una pratica di esercizio regolare. Inoltre, il pretrattamento con bicucullina, antagonista del recettore di GABAa, ha fermato gli effetti protettivi della pratica fisica sulle crisi (Lin et al., 2019). Tutti questi fattori dimostrano come che la

plasticità sinaptica e con essa la funzione GABAergica svolgano un ruolo chiave nel mediare gli effetti positivi dell'attività fisica sullo sviluppo delle crisi (Lin et al., 2019). In tal senso, il neurotrasmettitore inibitore GABA regola l'elaborazione delle informazioni modificando l'eccitabilità neuronale e la plasticità sinaptica; la disregolazione della trasmissione GABAergica e la perdita di neuroni GABAergici sono alla base del processo epilettico (Lin et al., 2019). Tale perdita di neuroni si può osservare nella formazione dell'ippocampo nelle crisi indotte da pilocarpina (Lin et al., 2019; Obenaus et al., 1993; Thind et al., 2010). Inoltre, l'input inibitorio GABAergico è probabilmente legato all'attivazione ipersincrona e ai successivi sintomi simil epilettici nei modelli animali (Beenhakker & Huguenard., 2009; Delorey et al., 1990; Lin et al., 2009). Nei ratti iniettati con PTZ di questo esperimento si è scoperto come l'esercizio cronico aumentasse i livelli di GAD67 che venivano ridotti dalla somministrazione di PTZ, suggerendo un effetto benefico dell'esercizio (Lin et al., 2009). Infine questo esperimento ha evidenziato come la bicucullina agisse invertendo gli effetti benefici dell'esercizio fisico sulle proteine sinaptiche nei ratti trattati con PTZ, al contrario di quanto evidenziato in studi differenti i quali presentavano risultati secondo per cui la bicucullina, antagonista del recettore GABAa, potenziava l'espressione di BDNF, neurotrofina presente nel SNC che mantiene in vita i neuroni esistenti e promuove la crescita di nuovi neuroni e sinapsi (Lin et al., 2009). Appare chiaro come una corretta funzione della stimolazione GABAergica, influenzata dall'esercizio cronico, sia fondamentale per evitare una maggiore ricorrenza di crisi epilettiche.

CAPITOLO 3

The effect of exercise on GABA signaling pathway in the model of chemically induced seizures (Barzroodi pour et al., 2019., Life Sciences)

ELSEVIER

Life Sciences
Volume 232, 1 September 2019, 116667

The effect of exercise on GABA signaling pathway in the model of chemically induced seizures

Mitra Barzroodi pour [a b], Mohamad Bayat [c], Freshteh Golab [a], Mina Eftekharzadeh [b], Majid Katebi [d], Mansoureh Soleimani [a b], Fariba Karimzadeh [a]

[a] Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[b] Department of Anatomy, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[c] Department of Anatomy, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
[d] Department of Anatomy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

3.1 Effetto dell'esercizio sul percorso di segnalazione GABA

Nel terzo capitolo di questo elaborato, il focus è stato posto in maniera decisa sulla relazione tra il meccanismo neurologico di segnalazione GABA, il cui eventuale malfunzionamento è noto per essere uno dei primari motivi dell'insorgenza di epilessia, e la pratica fisica. Grazie allo sforzo scientifico profuso negli ultimi anni, è stato evidenziato come esercizi aerobici a moderata ed alta intensità aumentassero la concentrazione di neurotrofine circolanti e di neurotrasmettitori, migliorando inoltre le funzioni psicologiche e cognitive nei pazienti epilettici(Barzroodi pour et al., 2019; Bherer et al., 2013; Ferris et al., 2007; Jeon & Ha, 2015). Inoltre, si pensa che durante l'esercizio il cervello riceva molteplici segnali da vari organi sensoriali i quali aiuterebbero a sopprimere le scariche epilettiche (Arida et al., 2009; Barzroodi pour et al., 2019) e al contempo l'attività fisica interverrebbe nell'aumento del rilascio di beta-endorfine ed inibirebbe l'attività epilettica (Albrecht, 1986; Barzroodi pour et al., 2019).

3.2 Sintesi di GABA ed impatto dell'attività fisica

Per quanto riguarda il sistema del neurotrasmettitore GABA, è risaputo che un ruolo per la sua sintesi all'interno del sistema nervoso centrale (SNC) è svolto dalla decarbossilasi dell'acido glutammico (GAD67 e GAD65). GAD67 partecipa alla produzione di circa il 90% di GABA all'interno del SNC mentre GAD65 interviene aumentando i livelli di GABA per una modulazione rapida (Barzroodi pour et al., 2019; Kanaani et al., 2010). Un esperimento laboratoriale svolto sui ratti ha riscontrato che l'esercizio stimola il sistema inibitorio dell'acido gamma-amminobutirrico (GABA) nell'ippocampo (Barzroodi pour et al., 2019; Holmes et al., 2015) ed un'ulteriore ricerca ha riportato come l'attività fisica abbia evitato la perdita neuronale GABAergica e prevenuto l'attivazione neuronale nell'ippocampo tramite una down-regulation (diminuzione del numero totale di siti recettoriali) del percorso di propagazione BDNF-TrkB(Barzroodi pour et al., 2019; Lim et al., 2015).

Uno degli studi principi che tratta gli effetti dell'esercizio sul percorso di segnalazione dell'acido gamma-amminobutirrico è quello svolto da Barzroodi et al., 2019; il quale analizzava l'effetto di una pratica fisica ad intensità moderata sull'espressione ippocampale di GAD65 e del recettore GABAa-alfa1 nei ratti epilettici trattati con PTZ. (Barzroodi pour et al., 2019).

3.3 Metodologia sperimentale

Per questo esperimento, sono stati selezionati 50 ratti WISTAR maschi ed adulti, posizionati in ambiente controllato con ciclo luce/buio a 22±1 gradi centigradi per 1 settimana prima dell'inizio dell'esperimento. Lo stato epilettico è stato indotto mediante somministrazioni di PTZ (35mg/kg). I sintomi convulsivi sono stati analizzati per 30 minuti e le crisi sono state valutate su una scala da 0 a 6, con 0 che indicava comportamento normale e 6 gravo stato epilettico(Barzroodi pour et al., 2019; Karimzadeh et al., 2013). Come attività fisica è stata scelta la corsa sul tapis roulant.

3.4 Esecuzione del protocollo sperimentale

Gli animali sono stati distribuiti randomicamente in 5 gruppi (n=10):

1. **gruppo convulsioni**: convulsioni indotte mediante PTZ intraperitoneale a giorni alterni per 4 settimane
2. **gruppo simulazione**: iniettata soluzione salina normale intraperitoneale con la stessa scaletta di iniezione di PTZ
3. **gruppo esercizio (EX**): animali costretti su un treadmill per 30 minuti, 5 giorni alla settimana, per le settimane 1-4 dell'esperimento
4. **gruppo esercizio e co-crisi (CO-SI EX):** crisi ed esercizio somministrati in contemporanea nelle settimane 1-4. Ratti obbligati alla corsa sul treadmill 5 giorni alla settimana; crisi indotte 5 ore dopo l'attività fisica, mediante lo stesso protocollo del gruppo con crisi
5. **gruppo PRE SI-EX**: animali obbligati ad esercitarsi come nel gruppo esercizio per le settimane 1-4(no iniezione di PTZ). Nelle 4 settimane successive le convulsioni e l'esercizio sono stati somministrati tramite protocollo speculare al gruppo CO-SI EX.(Barzroodi pour et al., 2019)

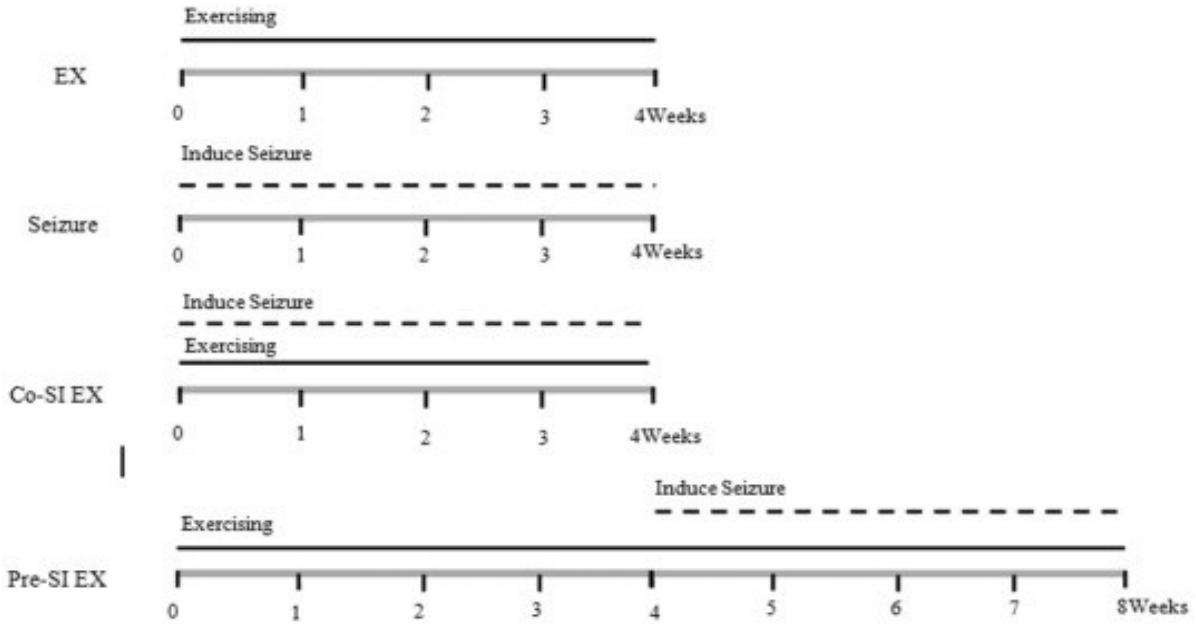

Figura n.3 **(Barzroodi pour et al., 2019)**

I ratti dei 3 gruppi di esercizio sono stati forzati a correre su un tapis per 30 minuti alla settimana per 5 giorni alla settimana con una velocità gradualmente intensificata (5 m/min ogni 5 minuti fino a 25 m/min); presenti inoltre 3 minuti di riscaldamento iniziali e 3 di defaticamento finali(Barzroodi pour et al., 2019).

3.5 Risultati

Come menzionato a 3.2, scopo di questo studio era studiare gli effetti dell'esercizio sul treadmill sull'espressione genica dei recettori **GAD65** e **GABAa-alfa1**.

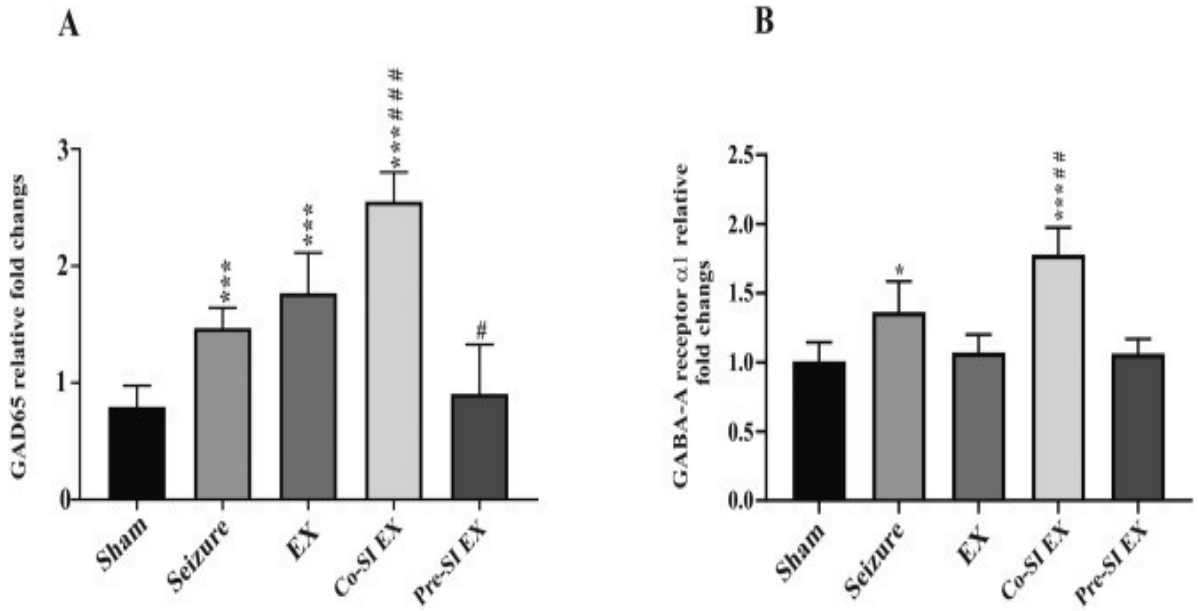

Figura n.3.1 **(Barzroodi pour et al., 2019)**

Tramite l'osservazione dei grafici qui sopra riportati, si nota come l'espressione di **GAD65** sia notevolmente incrementata nel **gruppo crisi**, nel gruppo **EX** e nel gruppo **CO-SI EX** rispetto al gruppo simulazione

(sham)(Barzroodi pour et al., 2019). (**grafico A**). Per quanto riguarda **GABAa-alfa1 (grafico B)**, si evidenzia un aumento sostanziale dell'espressione di tale recettore nel **gruppo** con **crisi** e nel gruppo **CO-SI EX** se paragonati al gruppo simulazione (**sham**) e nel gruppo **CO-SI EX** rispetto al **gruppo** con **crisi**. (Barzroodi pour et al., 2019). Inoltre, questo studio si è impegnato ad analizzare l'effetto dell'esercizio sulle capacità convulsive e sulla latenza delle crisi.

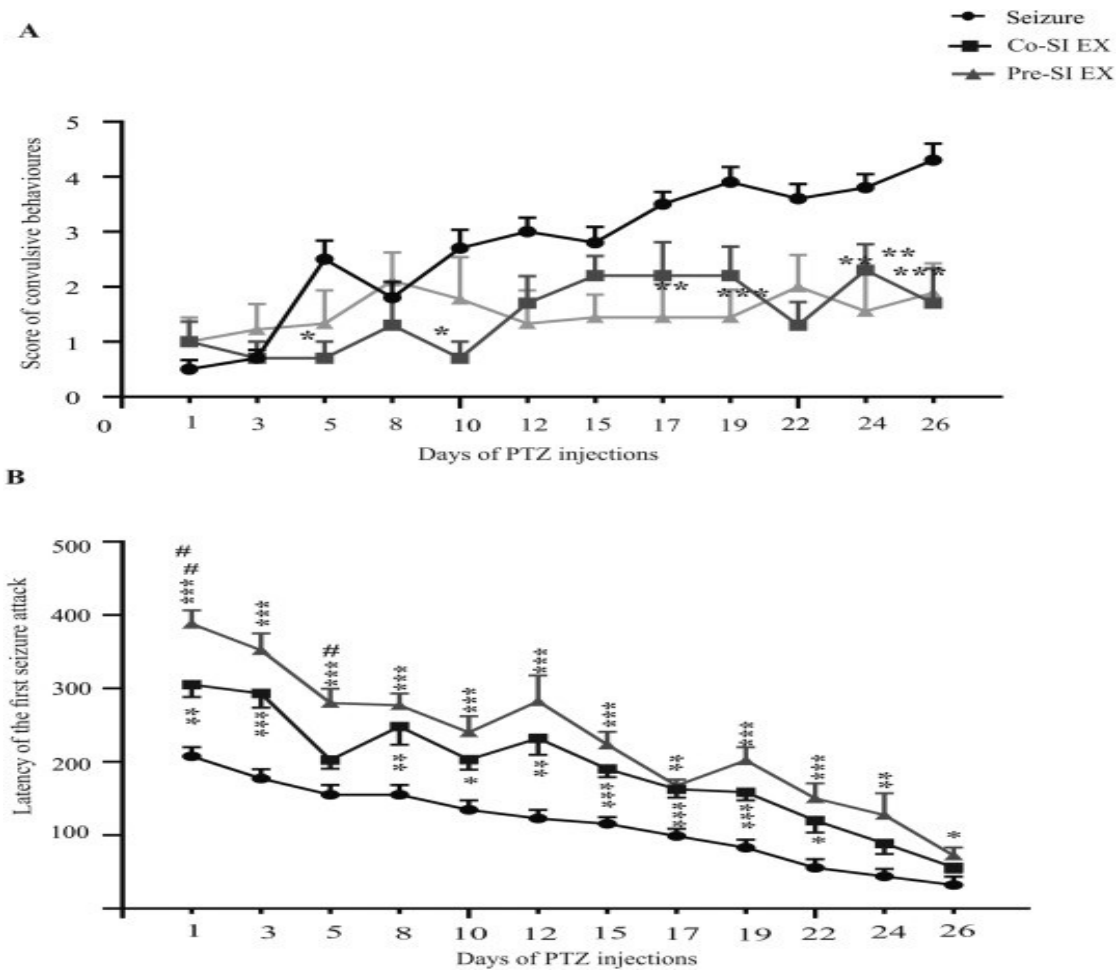

Figura n.3.2

(Barzroodi pour et al., 2019)

Nell'**immagine A**, il grafico evidenzia l'impatto dell'esercizio sui comportamenti convulsivi successivi all'iniezione di PTZ. I dati sovra riportati mettono in luce la riduzione dei punteggi delle crisi nei gruppi **CO-SI EX** e **PRE-SI EX** se confrontati col gruppo con crisi epilettiche non stimolato con l'allenamento. Inoltre, mediante l'analisi del **grafico B**, si nota come la latenza alle crisi sia aumentata nei gruppi **CO-SI EX** e **PRE-SI EX** rispetto al gruppo convulsivo. Tali evidenze **suggeriscono** un **effetto positivo** del protocollo allenante sul manifestarsi della sintomatologia epilettica (Barzroodi pour et al., 2019).

Ulteriore punto chiave di questo esperimento era valutare l'effetto dell'esercizio sulla vitalità cellulare tramite l'accertamento del numero medio di neuroni scuri, caratteristiche tipiche dei neuroni danneggiati, nell'ippocampo.

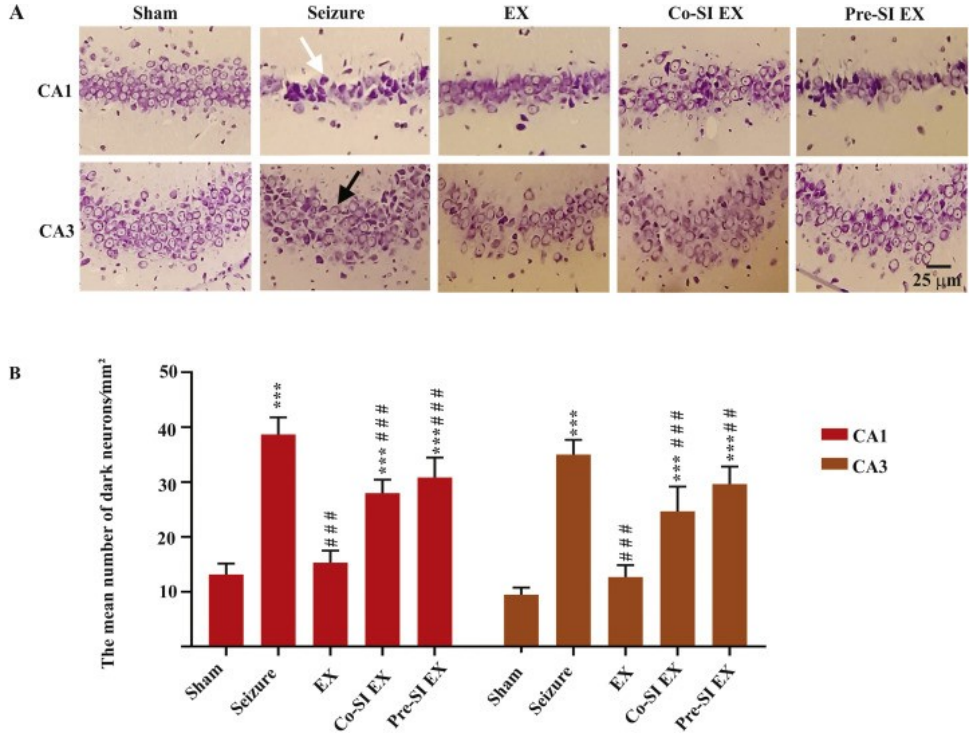

Figura n.3.3 **(Barzroodi pour et al., 2019)**

Osservando il grafico, si nota come in tutti i gruppi soggetti al protocollo allenante il numero medio di neuroni scuri sia notevolmente meno alto rispetto al gruppo con crisi. Inoltre, emerge come il numero medio di neuroni scuri sia decisamente incrementato nel **gruppo** con **crisi** e nei gruppi **CO-SI EX** e **PRE-SI EX** rispetto al **gruppo** di **simulazione** sia nell'area **CA1** che nell'area **CA3** dell'ippocampo (Barzroodi pour et al., 2019); al tempo stesso si può osservare che la presenza media di neuroni nelle aree **CA3** e **CA1** è notevolmente scesa in tutti i gruppi esercitati rispetto al gruppo con crisi (Barzroodi pour et al., 2019).

3.6 Discussione risultati

Analizzando i dati acquisiti mediante l'esperimento, si nota come l'esercizio sul treadmill abbia attenuato la gravità delle crisi e abbia ritardato gli attacchi epilettici nei ratti trattati con PTZ, in particolare nei ratti sottoposti a 4 settimane di allenamento prima della somministrazione di PTZ (Barzroodi pour et al., 2019). Tali evidenze potrebbero indicare un effetto antiepilettico ed antiepilettogeno portato dall'esercizio fisico. È stato inoltre mostrata una riduzione della concentrazione dei neuroni scuri a livello ippocampale in seguito ad esercizi svolti prima e dopo l'induzione dello stato epilettico. È noto che un'elevata presenza di fattori neuro infiammatori come IL-1beta abbia un ruolo chiave nell'ipereccitabilità e nella tossicità neurale, causa dei neuroni scuri (Vries et al., 2016; Vezzani & Friedman., 2011; Barzroodi pour et al., 2019). L'esercizio fisico può ricalibrare il livello di tali citochine (Balducci et al., 2010; Nishida et al., 2014; Barzroodi pour et al., 2019) indicando come l'effetto neuroprotettivo dell'attività fisica possa essere causata dall'eliminazione dei fattori infiammatori e dalla sopravvivenza dei neuroni GABA (Barzroodi pour et al., 2019). Al tempo stesso, lo studio ha sottolineato come animali epilettici senza esperienza di esercizio fisico esprimessero livelli notevoli di GAD65 e di GABAa-alfa1. Tale fattore può suggerire che queste elevate espressioni di

recettori possano essere una risposta compensatoria all'induzione dello stato epilettico chimicamente indotto; l'espressione aumentata di GAD, enzima responsabile della sintesi di GABA, all'interno dei neuroni interneuronali, suggerisce meccanismi autoprotettivi nella sindrome epilettica (Schwarzer & Sperk., 1995; Barzroodi pour et al., 2019). L'elevata concentrazione dei recettori inibitori GABA a livello ippocampale nei ratti esercitati in contemporanea con l'induzione delle crisi ha migliorato il deficit di GABA in seguito al trattamento con PTZ, indicando come il protocollo allenante abbia influito nel nell'equilibrio inibitorio/eccitatorio nelle condizioni epilettiche (Barzroodi pour et al., 2019).

CAPITOLO 4

Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures (de Lima Rosa et al., 2022., Epilepsy Research)

View PDF Download full issue

ELSEVIER

Epilepsy Research
Volume 186, October 2022, 107018

Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures

Gabriel de Lima Rosa [a], Edson Fernando Muller Guzzo [a], Silvia Elisandra Bitello Nunes [a], Rafael Bremm Padilha [c], Amanda Muliterno Domingues [c], Brayan Braz Barbosa [c], Ionara Rodrigues Siqueira [a b], Adriana Simon Coitinho [a b c]

[a] Postgraduate Program in Biological Sciences, Physiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, Brazil
[b] Postgraduate Program in Pharmacology and Therapeutics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, Brazil
[c] Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, Brazil

4.1 Effetto dell'esercizio fisico sui processi infiammatori alla base dell'epilessia

In questa parte della tesi, è stato trattato come l'esercizio fisico vada ad incidere sulla neuroinfiammazione che, come detto nell'introduzione, è una delle cause scatenanti dell'epilessia. Si parla di neuroinfiammazione quando la normale risposta infiammatoria, attivata dal rilascio di citochine, si protrae

eccessivamente con un conseguente danno cellulare, portando ad infiammazione cronica (de Lima Rosa et al., 2022). Attraverso l'utilizzo di modelli animali per l'analisi dell'epilessia, diversi studi hanno comprovato l'effetto protettivo dei farmaci antinfiammatori, mettendo in mostra il compito svolto dall'infiammazione nel progresso delle crisi (Beheshti Nasr et al., 2013; de Lima Rosa et al., 2021, 2022; Guzzo et al., 2018; Vieira et al., 2016). Nonostante non siano ancora definiti in modo chiaro i legami fisiologici tra attività fisica ed epilessia (de Lima Rosa et al., 2022) e manchino evidenze lampanti riguardo l'ipotetico effetto benefico dell'esercizio motorio sull'epilettogenesi, alcuni studiosi hanno evidenziato un effetto difensivo ed antinfiammatorio (Beavers et al., 2010; de Lima Rosa et al., 2022; Petersen & Pedersen, 2005; Pinto et al., 2012).

A tal proposito, un esperimento svolto da de Lima Rosa et al.,2022; tramite l'uso di un modello animale di crisi indotte da PTZ, ha testato gli effetti dell'esercizio aerobico a moderata intensità sulla gravità e la latenza di suddette crisi. Sono stati inoltre quantificati i livelli di citochine pro infiammatorie come **IL-1beta** e **TNF-alfa,** selezionate per il loro ruolo attivo nei processi di sconvolgimento dell'eccitabilità neuronale, e la citochina **IL-10**, agente antinfiammatorio coinvolto anch'esso nella condizione epilettica. Infine, all'interno di tale studio è stato combinata la pratica aerobica con un farmaco antinfiammatorio per testare un possibile effetto combinato (de Lima Rosa et al., 2021, 2022).

4.2 Metodologia sperimentale

Per questo studio, sono stati adoperati ratti WISTAR maschi di 2 mesi d'età; sono stati mantenuti in condizioni standard con accesso libero a cibo ed acqua e ciclo luce/buio pari a 12 ore. Come metodica allenante è stato scelto un esercizio aerobico su tapis roulant. Le crisi sono state indotte mediante iniezione di PTZ per tutti i 14 giorni dell'esperimento, somministrata 30 minuti dopo l'esercizio ed altri trattamenti (de Lima Rosa et al., 2022).

4.3 Esecuzione del protocollo sperimentale

I ratti sono stati suddivisi in 4 gruppi soggetti all'esperimento (n=8-12) e in 1 gruppo di controllo (n=6). Dei 4 gruppi sperimentali, soltanto 2 erano soggetti ad esercizio aerobico; il primo gruppo è stato trattato con soluzione salina per verificare l'effetto dell'esercizio da solo, mentre il secondo è stato posto sotto trattamento con **prednisolone** (1mg/kg) per verificare possibili benefici aggiuntivi derivati dalla combinazione dell'attività fisica col farmaco antinfiammatorio. I tre gruppi rimanenti erano composti da soggetti sedentari: il **gruppo di controllo negativo** ha ricevuto dosi di cloruro di sodio (0.9 g%), il **gruppo di controllo positivo** è stato trattato con diazepam (anticonvulsivante)(2mg/kg) e il **gruppo di controllo ingenuo** trattato anch'esso con cloruro di sodio ma senza somministrazioni di PTZ (de Lima Rosa et al., 2022).

Group	Drug	Exercise	PTZ
Exercise + Saline	Sodium Chloride	Yes	Yes
Exercise + Prednisolone	Prednisolone	Yes	Yes
Negative Control	Sodium Chloride	No	Yes
Positive Control (Diazepam)	Diazepam	No	Yes
Naive	Sodium Chloride	No	No

Figura n.4 **(de Lima Rosa et al., 2022)**

Gli animali soggetti al protocollo allenante eseguivano una corsa sul treadmill specifico per roditori ed è stato calibrato il massimo assorbimento di ossigeno (VO2 max) per stabilire quanto intensa dovesse essere tale corsa. I ratti si esercitavano sul treadmill a velocità incrementale (5m/min ogni 3 min) fino all'esaurimento. In seguito alla determinazione della capacità di esercizio, misura indiretta per determinare il VO2 max, stabilita tramite il tempo di affaticamento (minuti) e la velocità massima di corsa (m/min), gli animali hanno corso per ulteriori 30 minuti auna velocità pari al 60% del VO2 max (de Lima Rosa et al., 2022). Al contrario, gli animali sedentari sono stati posizionati su un macchinario non acceso per 5 minuti.

4.4 Risultati

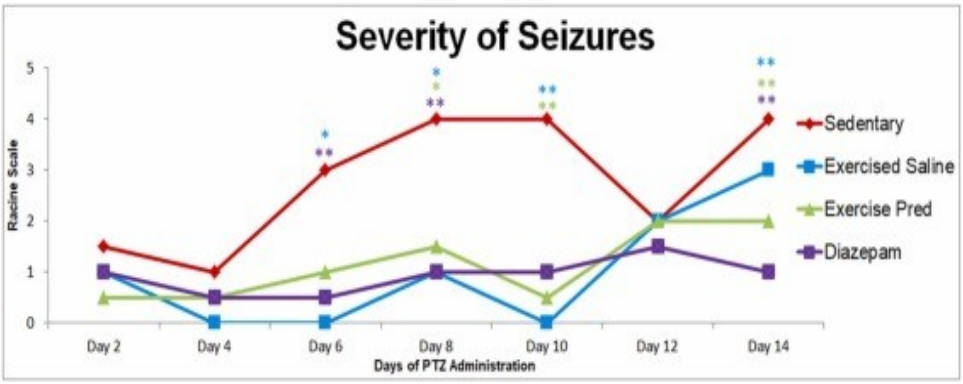

Figura n.4.1 **(de Lima Rosa et al., 2022)**

Come possibile osservare nella figura n.4.1, appare chiaro come la gravità dei punteggi delle crisi, basata sulla scala di Racine, sia diminuita nei gruppi di **esercizio da solo** o **combinato con prednisolone**, suggerendo fortemente un **effetto difensivo** garantito dall'**esercizio aerobico**; tale evidenza traspare anche nel **gruppo di controllo positivo** (de Lima Rosa et al., 2022). Analizzando attentamente il grafico, si nota come l'influenza protettiva della corsa sia diventata evidente dal sesto giorno dell'esperimento e si evidenzia come in particolar modo all'ottavo giorno entrambi **i gruppi di esercizio** e il **gruppo di controllo positivo** presentassero **stati epilettici meno gravi**. Durante il decimo giorno dello studio i gruppi esercitati mostravano adattamenti positivi, benché non si fossero allenati. Ciò indicava che la protezione dalle crisi non era vincolata al fatto che si allenassero in contemporanea coi test, eliminando l'ipotesi secondo la quale la protezione dipendeva da cambiamenti metabolici e vascolari collegati all'attività fisica (de Lima Rosa et al., 2022).

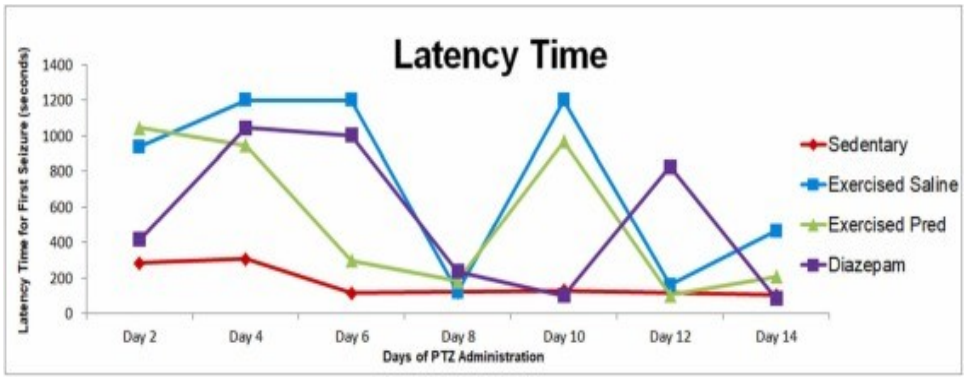

Figura n.4.2 **(de Lima Rosa et al., 2022)**

In quanto alla latenza delle crisi modulata dall'esercizio fisico, questo studio non ha dimostrato ritardi indotti dalla pratica allenante (figura n.4.2), discostandosi dai risultati di precedenti ricerche i quali indicavano un ritardo generato dall'esercizio (de Lima Rosa et al., 2022; Guzzo et al., 2021).

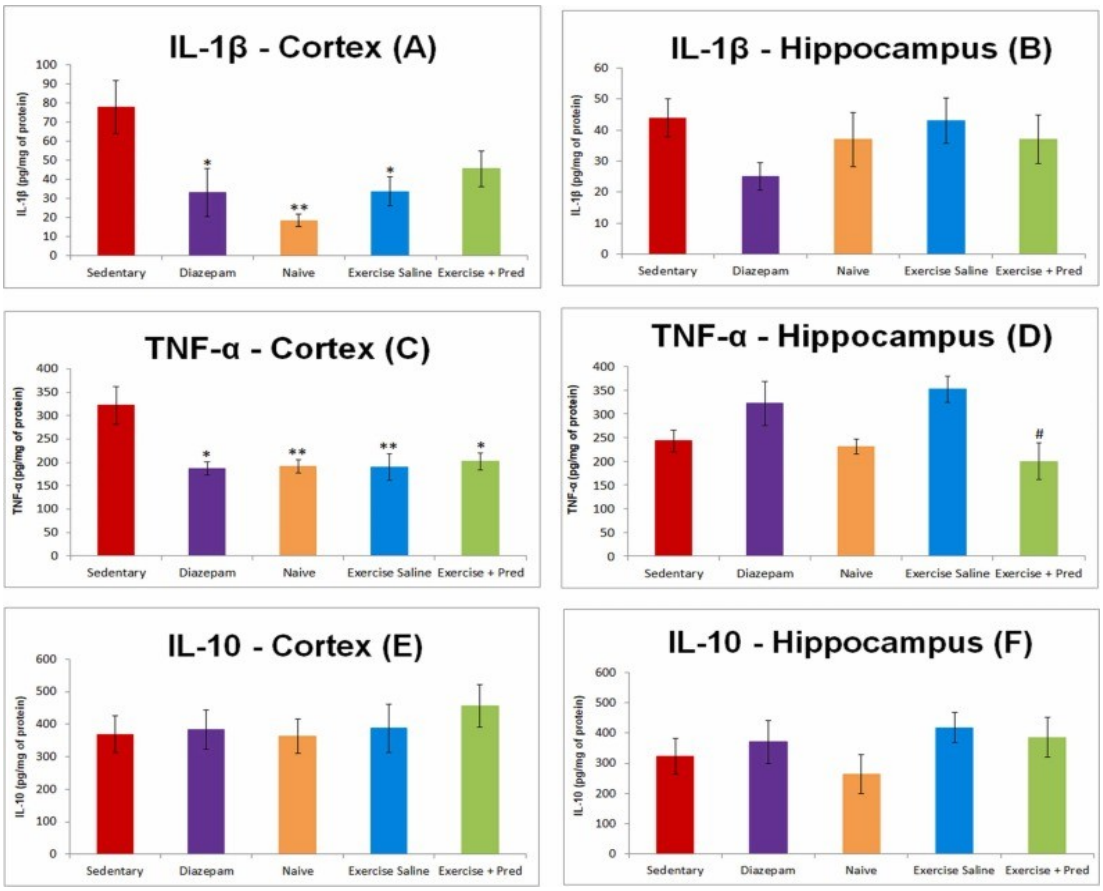

Figura n.4.3 **(de Lima Rosa et al., 2022)**

In merito alla quantificazione delle citochine, come evidenziato nel grafico A, Figura n.4.3, si nota che il livello della citochina pro-infiammatoria IL-1beta nella corteccia si attestava a **valori più elevati** nei **ratti sedentari** rispetto al **gruppo di esercizio** trattato con **soluzione salina**, al **gruppo di controllo positivo** e al **gruppo di controllo ingenuo.** Nell'ippocampo, non è stata riscontrata alcuna differenza significativa (de Lima Rosa et al., 2022).

Analizzando il grafico riguardante i livelli di **TNF-alfa** nella **corteccia** (grafico C), anch'essa pro-infiammatoria, emergono **risultati speculari** a quanto visto studiando il grafico riguardante IL-1beta, in

quanto il **gruppo sedentario** presentava **concentrazioni più elevate** di TNF-alfa rispetto agli altri sottogruppi, in questo frangente anche rispetto al gruppo trattato con **prednisolone.** In merito all'ippocampo, si può notare come **livelli minori** di TNF-alfa siano presenti nel **gruppo trattato con esercizio e farmaco antinfiammatorio** rispetto al solo esercizio, suggerendo un **possibile effetto sinergico.** Infine, in merito ai livelli di **IL-10** antinfiammatoria, **non sono state riscontrate differenze** degne di nota tra i vari gruppo sia per quanto riguarda la corteccia sia per l'ippocampo (de Lima Rosa et al., 2022).

4.5 Discussione risultati

In questo quarto studio, mediante un modello di stimolazione epilettica indotto da PTZ, si è scoperto che i gruppi di animali esercitati presentavano crisi meno intense nella maggior parte dei giorni dell'esperimento, anche nei giorni di riposo. Questa peculiarità ha escluso l'ipotesi riguardante un effetto acuto o uno dipendente da cambiamenti cardiovascolari o metabolici che potessero incrementare la capacità di smaltimento (clearance) del farmaco pro-convulsivante, evidenziando perciò l'effetto positivo dell'esercizio fisico (de Lima Rosa et al., 2022). Contrariamente ad altre pubblicazioni scientifiche, in questo studio l'esercizio fisico non ha presentato nessun effetto acuto nei test sperimentali, indicando come l'esercizio fisico possa richiedere un tempo maggiore per innescare una risposta modulatoria (de Lima Rosa et al., 2022). Per quanto riguarda le citochine IL-1beta e TNF-alfa, agenti attivi durante il processo epilettogeno, è noto come esse siano collegate a processi pro-infiammatori come edema ed aumento della permeabilità vascolare. In particolar modo IL-1beta partecipa all'attivazione dei recettori glutamatergici, stimolando in tal modo l'ipereccitabilità ed innescando crisi convulsive (Viviani et al., 2003; de Lima Rosa et al., 2022). TNF-alfa, in modo analogo, può aumentare la segnalazione tramite recettori simili ai recettori AMPA, recettori chiave per la trasmissione eccitatoria (Rana & Musto., 2018; de Lima Rosa et al., 2022). Come evidenziato nella figura n.4.3, i gruppi di esercizio presentavano un'infiammazione diminuita rispetto al gruppo sedentario, in quanto erano diminuiti i livelli di TNF-alfa ed IL-1beta. Tale evidenza indica fortemente un effetto immunomodulatorio positivo indotto dall'attività fisica (de Lima Rosa et al., 2022). Osservando i dati relativi ad IL-10, citochina anti infiammatoria, emerge chiaramente come non vi sia alcuna differenza nell'espressione di tale citochina in nessuno dei gruppi trattati, evidenziando come l'effetto antinfiammatorio sia stato generato da una riduzione delle citochine infiammatorie, anziché da un aumento di quelle antinfiammatorie (de Lima Rosa et al., 2022). Un'ulteriore spiegazione per l'effetto protettivo dell'esercizio riguarda il rilascio di glucocorticoidi generati dallo stress indotto dall'esercizio. I glucocorticoidi sono ormoni che influenzano il metabolismo e possono avere un effetto anti infiammatorio. Tale ipotesi può essere spunto per studi futuri (de Lima Rosa et al., 2022).

CAPITOLO 5

Effects of an exercise program on health of people with epilepsy: a randomized clinical trial (Häfele et al., 2021., Epilepsy & Behavior)

View PDF Download full issue

ELSEVIER

Epilepsy & Behavior
Volume 117, April 2021, 107904

Effects of an exercise program on health of people with epilepsy: A randomized clinical trial

César Augusto Häfele [a], Airton José Rombaldi [a], Natan Feter [a b], Vítor Häfele [a], Bianca Lamas Gervini [c], Marlos Rodrigues Domingues [a], Marcelo Cozzensa da Silva [a]

[a] Federal University of Pelotas, School of Physical Education, Pelotas, Brazil
[b] The University of Queensland, School of Human Movement and Nutrition Sciences, St Lucia Campus, Brisbane, Australia
[c] Brazilian Hospital Services Company (EBSERH), Pelotas, Brazil

5.1 Impatto di un programma di esercizi sulla salute dei pazienti epilettici

L'epilessia è una condizione medica multifattoriale che impatta la vita dei soggetti affetti in molteplici modi. I pazienti epilettici sono vittime di disuguaglianze socioeconomiche e sanitarie che portano a un ridotto accesso alle cure e pertanto a un debole controllo della malattia, specialmente nei paesi meno sviluppati (Organization WH. "Epilepsy: A Public Health Imperative: Summary." (2019); (Beghi et al., 2019; Häfele et al., 2021). Oltre alla consueta cura farmacologica, è stato provato che trattamenti secondari come la dieta e l'esercizio fisico possono aiutare a limitare questa sindrome (Eriksen et al., 1994; Häfele et al., 2021; Kverneland et al., 2018). A tal proposito, per quanto concerne gli umani, uno studio svedese ha rilevato come l'incidenza epilettica fosse inferiore del 50% negli sciatori rispetto al resto della popolazione, mettendo in luce un possibile effetto benefico dell'esercizio nel ritardare e nel prevenire l'insorgenza delle crisi(Ahl et al., 2019; Häfele et al., 2021). Nonostante ciò, studi scientifici sull'essere umano in letteratura scientifica rimangono poco numerosi (Häfele et al., 2015, 2021). Pertanto, Häfele et al., 2021; in uno studio hanno puntato a verificare l'impatto di un programma di esercizi fisici strutturati in 12 settimane sulla salute dei pazienti epilettici. All'interno di questa ricerca sono state misurate forma fisica (consumo massimo di ossigeno e forza), antropometria (body max index-BMI, peso e circonferenze di vita e fianchi) e il benessere dei pazienti (crisi epilettiche, qualità della vita ecc..). Tali parametri sono stati misurati prima e dopo il programma di allenamento e tra i vari gruppi partecipanti (Häfele et al., 2021).

5.2 Metodologia sperimentale

Per questo lavoro sperimentale, sono state selezionate 21 persone, di età compresa tra i 18 e i 60 anni, tutte affetti da epilessia e le quali non avevano svolto esercizio fisico nei 3 mesi precedenti all'esperimento. L'esperimento era della durata di 12 settimane e i 21 partecipanti sono stati divisi in 2 sottogruppi, il primo era il **gruppo di esercizio,EG,** (n=11) e il secondo era il **gruppo di controllo,CG,** (n=10). Il programma allenante prevedeva sia esercizio aerobico sia allenamento della forza (Häfele et al., 2021).

5.3 Esecuzione del protocollo sperimentale

5.3.1 Misure fisiche

Precedentemente all'inizio effettivo dei programmi di allenamento, i partecipanti hanno svolto il test di forza di presa della mano mediante un dinamometro Takei Scientific Instruments (TKK5401). Posizione eretta, piedi uniti, braccia adese al corpo, gomiti estesi e mano più forte che impugnava il dinamometro. I soggetti avevano 30 sec per stringere l'attrezzo. 3 tentativi con 30 sec di riposo. Utilizzato il valore più alto (Häfele et al., 2021).

La misurazione del VO2max è stata svolta tramite un test incrementale svolto su treadmill. In tale test da sforzo, la velocità d'inizio era 6km/h ed era stato svolto prima dell'inizio del test un riscaldamento di 4 minuti. La raccolta del gas per la quantificazione del VO2max è stata svolta in maniera continua mediante spirometria a circuito aperto tramite una maschera da test spirometrico (Häfele et al., 2021).

Successivamente, sono state misurate l'altezza con uno stadiometro a parete, il peso con un a bilancia digitale. Per quanto riguarda le circonferenze di vita e fianchi, la prima è stata misurata a livello del punto più stretto tra costole e cresta iliaca mentre la seconda a livello del grande trocantere. Le misure sono state prese da eretti (Häfele at al., 2021).

5.3.2 Programma di allenamento

Gli individui appartenenti al CG hanno partecipato a un programma di esercizi con una precisa struttura. Nell'arco dell'intero esperimento, 12 settimane, gli individui esercitati avrebbero svolto 2 sessioni a settimana per 1 ora al giorno, per un totale di 24 sessioni. Ogni seduta conteneva esercizio aerobico (treadmill), allenamento della forza svolto coi pesi ed esercizi di stretching (3 serie da 10 sec per ogni esercizio di stretching) (Häfele at al., 2021).

Le sessioni di allenamento sono state suddivise in 3 fasi:

1. **settimane 1-4**: 5 minuti di riscaldamento, 15 minuti di allenamento aerobico sul treadmill, 35 minuti di allenamento della forza, 5 minuti di stretching. In questo primo periodo, c'è stato un periodo di adattamento e sono state eseguite serie da 12-15 ripetizioni sub massimali. (Häfele at al., 2021). Successivamente, nelle settimane 2,3 e 4 i partecipanti hanno svolto 12-15 ripetizioni massimali.
2. **settimane 5-8**: aumento del volume di esercizio aerobico (si passa da 15 min a 20 min) e aumento del volume nell'allenamento della forza (3 serie). (Häfele at al., 2021).
3. **settimane 9-12**: 25 minuti di allenamento sul tredmill, 3 serie da 10-12 reps massimali per allenare la forza. Riposo tra le serie costante in tutte le fasi=90sec. (Häfele at al., 2021).

5.4 Risultati

Caratteristiche basali nel gruppo di esercizio (EG) e nel gruppo di controllo (CG)

	EG	**CG**	
VO_{2max} (ml/kg.min)	39.2 ± 9.8	35.5 ± 10.7	0.413[a]
Forza (kgf)	32.9 ± 10.2	35.4 ± 10.7	0.577[a]
Circonferenza della vita(cm)	82.9 ± 11.8	99.1 ± 20.0	**0.034**[a]
Circonferenza dei fianchi(cm)	99.9 ± 7.8	111.5 ± 16.1	0.072[b]
BMI (kg/m²)			0.192[c]

Figura n.5 **(Häfele et al., 2021)**

Durante i test di misurazione delle componenti fisiche e durante il protocollo d'allenamento non sono state riscontrate crisi.

Figura n.5.1 **(Häfele et al., 2021) Crisi prima e durante/dopo l'allenamento nei gruppi di esercizio e di controllo**

	Exercise group (*n* = 10)		***P***	**Control group (*n* = 10)**		***P***
	Pre	**Durante**	**0.010***	**Pre**	**Durante**	**0.500**
Sì	70.0% (7)	10% (1)		60% (6)	50% (5)	
No	30.0% (3)	90% (9)		40% (4)	50% (5)	

Osservando le statistiche riguardanti il **gruppo d'esercizio**, si nota come dei 7 soggetti aventi crisi avvenute prima del programma di allenante, soltanto 1 le ripresentava durante il programma stesso, suggerendo un **effetto positivo dell'esercizio** (vedi figura n.5.1). Per quanto riguarda il **gruppo di controllo**, non ci sono state modificazioni degne di nota e anzi la **situazione** è rimasta perlopiù **invariata** (Häfele et al., 2021).

Esercizio (n=10) (EG) **Controllo (n=10) (CG)**

MISURAZIONI FISICHE
PRE ***POST*** ***PRE*** ***POST***

VO_{2max} (ml/kg.min)	38.8 ± 10.3	41.3 ± 12.9	**0.041**	35.5 ± 10.7	34.1 ± 10.0	0.199	0.253	0.486	**0.017**
Forza (kgf)	30.6 ± 7.4	34.1 ± 10.2	**0.002**	35.4 ± 36.5	36.6 ± 10.0	0.219	0.333	**0.002**	0.131
Peso (kg)	66.5 ± 15.8	67.5 ± 15.9	-	86.8 ± 28.8	86.7 ± 28.8	-	**0.045**	0.173	0.089
BMI, (kg/m2)	20.6 ± 4.3	20.9 ± 4.3	-	26.6 ± 8.1	26.5 ± 8.1	-	**0.035**	0.157	0.087
Circonferenza fianchi(cm)	99.7 ± 8.2	100.0 ± 8.3	-	111.5 ± 16.1	110.6 ± 14.8	-	**0.032**	0.546	0.228
Circonferenza vita (cm)	82.2 ± 12.2	82.5 ± 12.8	-	99.1 ± 20.0	98.4 ± 19.9	-	**0.020**	0.741	0.408

Figura n.5.2 **(Häfele et al., 2021)**

Dall'analisi delle misurazioni fisiche prese prima e dopo il programma di allenamento, descritte a Figura n.5.2, emerge come nell'**EG** il valore del **VO2max** calcolato mediante spirometria e il valore dell'espressione di **forza** siano **aumentati** in maniera considerevole, il primo del 6.4% e il secondo dell'11.4% (Häfele et al., 2021). Invece, nel CG non ci sono state modificazioni importanti da segnalare (Häfele et al., 2021).

5.5 Discussione risultati

Lo studio descritto qui sopra puntava a confrontare la frequenza delle crisi in gruppo di persone con epilessia per verificare se l'esercizio fisico potesse migliorare la qualità della vita e ridurre la frequenza delle crisi e in seguito al raccoglimento dei risultati qui sopra riportati, la conclusione principale è stata che l'attività fisica ha impattato in maniera positiva aiutando a ridurre la frequenza delle crisi (Häfele et al., 2021). Gli effetti dell'esercizio fisico sulle crisi epilettiche sono stati discussi (Häfele et al., 2021; Gotze et al., 1967) e si ritiene che alcuni possibili meccanismi alla base siano la modulazione del sistema neurotrasmettitore e cambiamenti metabolici e neuroendocrini (Häfele et al., 2021; Arida & Teixeira-Machado., 2020). Tuttavia, questi meccanismi non sono ancora compresi a pieno. A tal proposito, recenti lavori sperimentali basati su modelli animali hanno tentato di definire tali meccanismi. Un primo lavoro eseguito da Almeida et al., ha sottolineato come l'esercizio intervenisse nell'incrementare i livelli del fattore neurotrofico derivato dall'encefalo (BDNF) e del suo recettore tirosin-chinasi (trkB) nell'ippocampo (Häfele et al., 2021; Almeida et al., 2018). In uno studio ulteriore, Lin et al., si notava come l'esercizio regolare stabilizzasse la plasticità sinaptica a livello ippocampale e nel sistema GABAergico, indicando questi fattori come mediatori degli effetti positivi indotti dalla pratica fisica (Häfele et al., 2021; Lin et al., 2019). È stato inoltre indicato che l'esercizio aerobico costante negli umani potrebbe portare ad un aumento del volume ippocampale, fattore probabilmente causato da livelli maggiori di BDNF indotti dall'esercizio, agenti principali nella neuro protezione e plasticità cerebrale (Häfele et al., 2021; Feter et al., 2018). Di più, un'ulteriore possibile spiegazione è collegata allo stress ossidativo, disfunzione caratterizzata dalla presenza di agenti pro ossidanti come ROS (specie reattive dell'ossigeno) e RNS (specie reattive dell'azoto). Diverse

ricerche hanno stabilito come le crisi promuovano la generazione di tali agenti, che possono causare danni neuronali (Häfele et al., 2021; Chuang., 2010) e compromettere il rilascio neurotrasmettitoriale e causare disfunzione mitocondriale, provocando ipereccitabilità neuronale. In un esperimento condotto da Feter et al., 2019; è stato evidenziato come l'allenamento di tipo aerobico ad intensità moderata potrebbe ridurre tale stress ossidativo (Häfele et al., 2021; Feter et al., 2019) suggerendo perciò che la modulazione dello stress ossidativo nel cervello indotta dalla pratica fisica sia fondamentale per il controllo delle crisi (Häfele et al., 2021). Infine la diminuzione dell'incidenza dell'attività epilettica potrebbe essere spiegata dal miglioramento del consumo di ossigeno e dal miglioramento della forza nei soggetti dell'EG, condizioni causate dalla pratica fisica. Si pensa che il miglioramento fisico abbia portato a un flusso sanguigno cerebrale più alto (Häfele et al., 2021; Kleinloog et al., 2019), contribuendo a sostenere il sistema GABA, migliorando la plasticità sinaptica (Häfele et al., 2021; Lin et al., 2019).

DISCUSSIONE GENERALE

Osservando ed analizzando attentamente i risultati e le scoperte descritte in questi 5 studi, appare e chiaro e ridondante come le cause principali causanti epilessia e sulle quali gli studiosi hanno voluto lavorare per verificare un ipotetico effetto benefico dell'esercizio fisico siano: la neuroinfiammazione, causata da un'alta presenza di citochine pro infiammatorie; lo stress ossidativo, caratterizzato da uno squilibrio tra specie pro ossidanti ed antiossidanti; disfunzione della funzione GABAergica, il cui ruolo inibitorio è fondamentale nell'economia della trasmissione sinaptica.

Il primo studio, quello di Shishmanova-Doseva et al., 2022; tramite un protocollo allenante applicato prima e dopo lo stato epilettico indotto da pilocarpina, ha stabilito come l'allenamento aerobico a lungo termine abbia elevato la soglia critica necessaria per indurre crisi (Shishmanova-Doseva et al.,2022), migliorando al contempo lo stato di infiammazione riducendo i livelli di TNF-alfa e di IL-1beta, citochine pro infiammatorie. Questi fattori, oltre ad un diminuito stress ossidativo a livello ippocampale (Shishmanova-Doseva et al.,2022), indicano come in questo frangente l'esercizio fisico abbia avuto effetto benefico sulla sintomatologia epilettica.

Il secondo studio, condotto da Lin et at al., 2019; avvalendosi anch'esso di un modello animale trattato con pentilentetrazolo, ha riscontrato che nel gruppo sperimentale stimolato con PTZ l'esercizio fisico ha ridotto la durata e la frequenza degli insulti epilettici nei ratti praticanti attività fisica al contrario dei ratti trattati anch'essi con PTZ ma sedentari (Lin et al., 2019), suggerendo dunque come l'esercizio possa avere un effetto positivo. Ciò avveniva mediante la normalizzazione della funzione GABAergica, in special modo tramite un rialzamento dei livelli di GAD65 e di GABAa, recettori chiave per il corretto funzionamento del sistema GABAergico, fondamentale nel suo compito di inibizione della stimolazione (Lin et al., 2019). Tali livelli erano stati abbassati dalla cronica iniezione di PTZ (Lin et al., 2019).

Il terzo studio, svolto da Barzroodi pour et al., 2019; mediante un modello epilettico animale, anch'esso trattato con PTZ, ribadiva i risultati scoperti nello studio di Lin et al., 2019; evidenziando allo stesso modo

come la gravità delle crisi fosse diminuita nei gruppi allenati rispetto al gruppo con crisi che non eseguiva il protocollo allenante, fenomeno accompagnato di pari passo da un aumento della latenza delle crisi (Barzroodi pour et al., 2019), sottolineando ancora una volta l'effetto protettivo indotto dall'esercizio fisico. Questo studio si è inoltre soffermato sull'analisi della concentrazione di neuroni scuri, noti come le caratteristiche tipiche dei cambiamenti indotti nei neuroni danneggiati (Barzroodi pour et al., 2019). In questa analisi degli effetti dell'esercizio sulla vitalità cellulare, è stato dimostrato come il numero medio di neuroni scuri fosse diminuito in tutti i gruppi sottoposti ad esercizio trattati con PTZ rispetto al gruppo sedentario sottoposto a crisi indotte da PTZ. Inoltre in questa pubblicazione è stato riscontrato come l'attività fisica sviluppasse effetti antiepilettici e neuroprotettivi modulando la disinibizione del sistema GABAergico (Barzroodi pour et al., 2019). Questo fenomeno è stato possibile grazie ad un'alta presenza dei recettori GAD65 e GABAa, fondamentali per la sintesi di GABA, nei soggetti sottoposti al protocollo allenante, rafforzando il pensiero secondo per cui l'esercizio fisico impatterebbe positivamente sullo sviluppo epilettico (Barzroodi pour et al., 2019).

Nel quarto studio presente in questo progetto di tesi, svolto da de Lima Rosa et al., 2022; con l'utilizzo di un modello epilettico animale, si è tentato di testare se l'attività fisica da sola come terapia non farmacologica o combinata con un farmaco anti infiammatorio, il prednisolone, potesse impattare positivamente sulle crisi convulsive (de Lima Rosa et al., 2022) ed al tempo stesso si è cercato di determinare l'impatto della neuro infiammazione sull'epilettogenesi (de Lima Rosa et al., 2022). È risaputo come le citochine pro infiammatorie, come TNF-alfa ed IL-1beta, partecipino all'attivazione dei recettori glutamatergici, i quali agiscono, al contrario dei recettori GABA, da recettori eccitatori (Viviani et al., 2003; de Lima Rosa et al., 2022). In tal modo, appare chiaro come tali citochine contribuiscano all'ipereccitabilità neuronale, la quale, essendo una delle principali cause dello stato epilettico, evidenzia come la neuro infiammazione impatti in modo inequivocabile sull'epilettogenesi (de Lima Rosa et al., 2022). Relativamente all'impatto dell'esercizio fisico sulla neuro infiammazione, si osserva come nei gruppi praticanti esercizio ci sia stata una diminuzione delle citochine pro infiammatorie rispetto al gruppo sedentario, a livello corticale, suggerendo quindi come il protocollo aerobico abbia stimolato la loro riduzione, portando benefici ed avallando l'ipotesi presente in ulteriori studi secondo per cui l'esercizio fisico ha effetto positivo sulla sintomatologia epilettica (de Lima Rosa et al., 2022).

Nel quinto ed ultimo studio trattato in questa tesi, di Häfele et al., 2021; è stato condotto un esperimento clinico con soggetti umani per verificare in che modo un programma di allenamento aerobico e di forza avrebbe impattato sulla salute dei pazienti epilettici (Häfele et al., 2021). Come osservabile al paragrafo 5.4, si nota come in linea generale l'esercizio fisico abbia contribuito a ridurre la frequenza delle crisi e abbia aumentato la forma cardiorespiratoria (Häfele et al., 2021). Una spiegazione possibile a questo effetto positivo potrebbe essere individuata nell'aumento di BDNF (fattore neurotrofico cerebrale) causato dall'esercizio (Häfele et al., 2021; Almeida et al., 2018). BDNF è una neurotrofina, la quale aiuta a sostenere la sopravvivenza dei neuroni esistenti e promuove la crescita di nuovi neuroni e sinapsi. Perciò, un

incremento di tale neurotrofina potrebbe incidere positivamente nello stimolo inibitorio indotto da GABA e conseguentemente sulla sintomatologia epilettica. Inoltre, analogamente ad altri studi, è stato evidenziato come l'esercizio regolare normalizzasse la plasticità sinaptica a livello dell'ippocampo e ricalibrasse il sistema GABAergico, entrambi fattori indispensabili per una corretta inibizione della stimolazione sinaptica (Häfele et al., 2021; Lin et al., 2019). Per quanto riguarda lo stress ossidativo, anch'esso è uno dei meccanismi fisiologici alla base dell'epilettogenesi. È stato dimostrato come la riduzione delle specie reattive dell'ossigeno a livello cerebrale, indotta dall'esercizio fisico, abbia avuto un effetto positivo sulla sintomatologia epilettica (Häfele et al., 2021; Feter et al., 2019), mettendo in luce perciò gli effetti benefici dell'esercizio fisico come terapia non farmacologica contro l'epilessia (Häfele et al., 2021). In ultima battuta questo studio ha ipotizzato che il diminuimento delle crisi avesse come origine un miglioramento del consumo di ossigeno e un miglioramento nei valori di forza espressa nei soggetti allenati, cambiamenti generati dall'attività fisica i quali avrebbero incrementato il volume ematico cerebrale (Häfele et al., 2021; Kleinloog et al., 2019), permettendo un miglior funzionamento del sistema GABAergico e dei neurotrasmettitori; dunque, anche in questo frangente, appare chiaro il beneficio apportato dalla pratica fisica (Häfele et al., 2021).

CONCLUSIONI

Questo progetto di tesi, come menzionato nell'introduzione, mirava a valutare gli effetti dell'esercizio fisico sull'epilessia nell'essere umano, con lo scopo di verificare se l'attività fisica impattasse positivamente, negativamente o in maniera nulla sull'epilettogenesi.

Avvalendosi di 5 studi sperimentali, condotti su modelli animali di epilessia, si nota come l'esercizio ricopra in maniera preponderante un ruolo benefico sull'epilettogenesi, ad esempio riducendo le citochine pro infiammatorie (Shishmanova-Doseva et al., 2022; de Lima Rosa et al., 2022), sviluppando effetti antiepilettici attraverso la modulazione del sistema GABAergico (Barzroodi pour et al., 2019; Häfele et al., 2021) e riducendo lo stress ossidativo che causava danni a livello sinaptico ed aumentava l'ipereccitabilità (Shishmanova-Doseva et al., 2022; Häfele et al., 2021). Tutte queste evidenze dimostrano pertanto come l'esercizio fisico, dall'alto della sua comprovata attività benefica, possa essere indicato come terapia non farmacologica per il trattamento dell'epilessia.

Tuttavia, nonostante quanto detto, i meccanismi esatti alla base del rapporto tra esercizio ed epilessia sono ancora oggi fonte di numerosi studi volti a dirimere le ultime zone d'ombra. Pertanto, si ritiene che ulteriori studi futuri siano indispensabili per acquisire informazioni più precise ed eventualmente, sulla base di quanto scoperto, poter proporre un adeguato programma allenante specifico per ogni individuo.

Come si nota in questo progetto di tesi, la maggior parte dei protocolli allenanti si basava su esercizi di tipo aerobico, mentre ulteriori tipologie di esercizio erano scarsamente rappresentate nella letteratura scientifica.

Questa preponderanza metodologica è spiegabile partendo dal fatto che l'esercizio aerobico, oltre a richiedere un aumento del quantitativo di ossigeno circolante, impatta direttamente sul sistema nervoso in quanto, in seguito allo stress indotto da esercizio, si ha un'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene il quale, per mantenere lo stato omeostatico, può aumentare la frequenza delle crisi (Carter & McGrew, 2021). Inoltre, durante la pratica aerobica, si può scatenare un processo di iperventilazione, la quale può essere essa stessa causa delle crisi di assenza, una tipologia di crisi epilettica (Carter & McGrew, 2021). Pertanto, la maggior parte degli studi tende ad utilizzare tale meccanismo sperimentale, in merito al quale si hanno più informazioni. Potrebbe essere interessante, per quanto riguarda studi futuri, prendere in considerazione metodologie allenanti differenti, eventualmente focalizzandosi su componenti come forza, ipertrofia, velocità in modo da poter avere una più ampia visuale sulle possibili implicazioni tra esercizio ed epilessia.

Infine, si ritiene necessario approfondire l'effetto dell'esercizio sull'epilessia tramite l'utilizzo di modelli sperimentali che coinvolgano direttamente gli esseri umani, per testare direttamente sulle persone i protocolli allenanti, anziché basandosi su modelli animali. Per far ciò, appare necessario promuovere l'attività fisica tra i pazienti epilettici, troppo spesso esclusi da tale pratica a causa di convinzioni errate ed anacronistiche che li vedevano come soggetti a rischio.

BIBLIOGRAFIA

Ahl, M., Avdic, U., Strandberg, M. C., Chugh, D., Andersson, E., Hållmarker, U., James, S., Deierborg, T., & Ekdahl, C. T. (2019). Physical Activity Reduces Epilepsy Incidence: a Retrospective Cohort Study in Swedish Cross-Country Skiers and an Experimental Study in Seizure-Prone Synapsin II Knockout Mice. *Sports Medicine - Open*, *5*(1). https://doi.org/10.1186/s40798-019-0226-8

Albrecht, H. (1986). Endorphins, sport and epilepsy: getting fit or having one? In *New Zealand Medical Journal* (Vol. 99, Issue 814).

Arida, R. M., de Jesus Vieira, A., & Cavalheiro, E. A. (1998). Effect of physical exercise on kindling development. *Epilepsy Research*, *30*(2). https://doi.org/10.1016/S0920-1211(97)00102-2

Arida, R. M., Scorza, F. A., Gomes da Silva, S., Schachter, S. C., & Cavalheiro, E. A. (2010). The potential role of physical exercise in the treatment of epilepsy. In *Epilepsy and Behavior* (Vol. 17, Issue 4). https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2010.01.013

Arida, R. M., Scorza, F. A., Terra, V. C., Scorza, C. A., de Almeida, A. C., & Cavalheiro, E. A. (2009). Physical exercise in epilepsy: What kind of stressor is it? In *Epilepsy and Behavior* (Vol. 16, Issue 3). https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.08.023

Arida, R. M., & Teixeira-Machado, L. (2021). The Contribution of Physical Exercise to Brain Resilience. In *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (Vol. 14). https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.626769

Balducci, S., Zanuso, S., Nicolucci, A., Fernando, F., Cavallo, S., Cardelli, P., Fallucca, S., Alessi, E., Letizia, C., Jimenez, A., Fallucca, F., & Pugliese, G. (2010). Anti-inflammatory effect of exercise training in

subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *20*(8). https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.04.015

Barzroodi pour, M., Bayat, M., Golab, F., Eftekharzadeh, M., Katebi, M., Soleimani, M., & Karimzadeh, F. (2019). The effect of exercise on GABA signaling pathway in the model of chemically induced seizures. *Life Sciences*, *232*. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116667

Beavers, K. M., Brinkley, T. E., & Nicklas, B. J. (2010). Effect of exercise training on chronic inflammation. In *Clinica Chimica Acta* (Vol. 411, Issues 11–12). https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.02.069

Beenhakker, M. P., & Huguenard, J. R. (2009). Neurons that Fire Together Also Conspire Together: Is Normal Sleep Circuitry Hijacked to Generate Epilepsy? In *Neuron* (Vol. 62, Issue 5). https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.015

Beghi, E., Giussani, G., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abraha, H. N., Adib, M. G., Agrawal, S., Alahdab, F., Awasthi, A., Ayele, Y., Barboza, M. A., Belachew, A. B., Biadgo, B., Bijani, A., Bitew, H., Carvalho, F., Chaiah, Y., Daryani, A., … Murray, C. J. L. (2019). Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, *18*(4), 357–375. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30454-X

Beheshti Nasr, S. M., Moghimi, A., Mohammad-Zadeh, M., Shamsizadeh, A., & Noorbakhsh, S. M. (2013). The effect of minocycline on seizures induced by amygdala kindling in rats. *Seizure*, *22*(8), 670–674. https://doi.org/10.1016/j.seizure.2013.05.005

Bherer, L., Erickson, K. I., & Liu-Ambrose, T. (2013). A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. In *Journal of Aging Research* (Vol. 2013). https://doi.org/10.1155/2013/657508

Capovilla, G., Kaufman, K. R., Perucca, E., Moshé, S. L., & Arida, R. M. (2016). Epilepsy, seizures, physical exercise, and sports: A report from the ILAE Task Force on Sports and Epilepsy. *Epilepsia*, *57*(1). https://doi.org/10.1111/epi.13261

Carter, J. M., & McGrew, C. (2021). Seizure Disorders and Exercise/Sports Participation. *Current Sports Medicine Reports*, *20*(1). https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000799

Cavalcante, B. R. R., Improta-Caria, A. C., Melo, V. H. de, & de Sousa, R. A. L. (2021). Exercise-linked consequences on epilepsy. In *Epilepsy and Behavior* (Vol. 121). https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108079

Chaouloff, F. (1989). Physical exercise and brain monoamines: A review. In *Acta Physiologica Scandinavica* (Vol. 137, Issue 1). https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1989.tb08715.x

Chun, E., Bumanglag, A. v., Burke, S. N., & Sloviter, R. S. (2019). Targeted hippocampal GABA neuron ablation by Stable Substance P–saporin causes hippocampal sclerosis and chronic epilepsy in rats. *Epilepsia*, *60*(5). https://doi.org/10.1111/epi.14723

de Lima, C., Vancini, R. L., Arida, R. M., Guilhoto, L. M. F. F., de Mello, M. T., Barreto, A. T., Guaranha, M. S. B., Yacubian, E. M. T., & Tufik, S. (2011). Physiological and electroencephalographic responses to acute exhaustive physical exercise in people with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, *22*(4). https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.08.033

de Lima Rosa, G., Guzzo, E. F. M., Nunes, S. E. B., Padilha, R. B., Domingues, A. M., Barbosa, B. B., Siqueira, I. R., & Coitinho, A. S. (2022). Aerobic exercise, alone or combined with an anti-inflammatory drug, reduces the severity of epileptic seizures and levels of central pro-inflammatory cytokines in an animal model of epileptic seizures. *Epilepsy Research*, *186*. https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.107018

de Lima Rosa, G., Muller Guzzo, E., Muliterno Domingues, A., Bremm Padilha, R., Dias de Oliveira Amaral, V., & Simon Coitinho, A. (2021). Effects of prednisolone on behavioral and inflammatory profile in animal model of PTZ-induced seizure. *Neuroscience Letters*, *743*. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135560

Delorey, T. M., Handforth, A., Anagnostaras, S. G., Homanics, G. E., Minassian, B. A., Asatourian, A., Fanselow, M. S., Delgado-Escueta, A., Ellison, G. D., & Olsen, R. W. (1998). *Mice Lacking the 3 Subunit of the GABA A Receptor Have the Epilepsy Phenotype and Many of the Behavioral Characteristics of Angelman Syndrome*.

de Sousa, R. A. L., Peixoto, M. F. D., Leite, H. R., Oliveira, L. R. S. de, Freitas, D. A., Silva-Júnior, F. A. da, Oliveira, H. S., Rocha-Vieira, E., Cassilhas, R. C., & Oliveira, D. B. de. (2022). Neurological consequences of exercise during prenatal Zika virus exposure to mice pups. *International Journal of Neuroscience*, *132*(11). https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1860970

de Vries, E. E., van den Munckhof, B., Braun, K. P. J., van Royen-Kerkhof, A., de Jager, W., & Jansen, F. E. (2016). Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 63). https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.02.007

Dunn, A. L., Reigle, T. G., Youngstedt, S. D., Armstrong, R. B., & Dishman, R. K. (1996). Brain norepinephrine and metabolites after treadmill training and wheel running in rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *28*(2). https://doi.org/10.1097/00005768-199602000-00008

Eriksen, H. R., Ellertsen, B., Grønningsæter, H., Nakken, K. O., Løyning, Y., & Ursin, H. (1994). Physical Exercise in Women with Intractable Epilepsy. *Epilepsia*, *35*(6). https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1994.tb01797.x

Ferris, L. T., Williams, J. S., & Shen, C. L. (2007). The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *39*(4). https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31802f04c7

Feter, N., Penny, J. C., Freitas, M. P., & Rombaldi, A. J. (2018). Effect of physical exercise on hippocampal volume in adults: Systematic review and meta-analysis. In *Science and Sports* (Vol. 33, Issue 6). https://doi.org/10.1016/j.scispo.2018.02.011

Feter, N., Spanevello, R. M., Soares, M. S. P., Spohr, L., Pedra, N. S., Bona, N. P., Freitas, M. P., Gonzales, N. G., Ito, L. G. M. S., Stefanello, F. M., & Rombaldi, A. J. (2019). How does physical activity and different

models of exercise training affect oxidative parameters and memory? *Physiology and Behavior*, *201*. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.12.002

Fisher, R. S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). In *Epilepsia* (Vol. 46, Issue 4). https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x

Freitas, D. A., Rocha-Vieira, E., de Sousa, R. A. L., Soares, B. A., Rocha-Gomes, A., Chaves Garcia, B. C., Cassilhas, R. C., Mendonça, V. A., Camargos, A. C. R., de Gregorio, J. A. M., Lacerda, A. C. R., & Leite, H. R. (2019). High-intensity interval training improves cerebellar antioxidant capacity without affecting cognitive functions in rats. *Behavioural Brain Research*, *376*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112181

Georgieva, K. N., & Boyadjiev, N. P. (2004). Effects of nandrolone decanoate on V̇O2max, running economy, and endurance in rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *36*(8), 1336–1341. https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000135781.42515.17

Götze, W., Kubicki, S., Munter, M., & Teichmann, J. (1967). Effect of physical exercise on seizure threshold (investigated by electroencephalographic telemetry). *Diseases of the Nervous System*, *28*(10).

Guzzo, E. F. M., Lima, K. R., Vargas, C. R., & Coitinho, A. S. (2018). Effect of dexamethasone on seizures and inflammatory profile induced by Kindling Seizure Model. *Journal of Neuroimmunology*, *325*. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.10.005

Guzzo, E. F. M., Rosa, G. de L., Bremm, R. P., Meska, C. P., Vargas, C. R., & Coitinho, A. S. (2021). Parameters of Oxidative Stress and Behavior in Animals Treated with Dexametasone and Submitted to Pentylenetetrazol Kindling. *Journal of Epilepsy Research*, *11*(2). https://doi.org/10.14581/jer.21017

Haerian, B. S., Baum, L., Kwan, P., Cherny, S. S., Shin, J. G., Kim, S. E., Han, B. G., Tan, H. J., Raymond, A. A., Tan, C. T., & Mohamed, Z. (2016). Contribution of GABRG2 Polymorphisms to Risk of Epilepsy and Febrile Seizure: a Multicenter Cohort Study and Meta-analysis. *Molecular Neurobiology*, *53*(8). https://doi.org/10.1007/s12035-015-9457-y

Häfele, C. A., Freitas, M. P., & Rombaldi, A. J. (2015). Efeitos do exercício físico na epilepsia em humanos: Uma revisão sistemática. *Revista Neurociencias*, *23*(3). https://doi.org/10.4181/RNC.2015.23.03.1023.09p

Häfele, C. A., Rombaldi, A. J., Feter, N., Häfele, V., Gervini, B. L., Domingues, M. R., & da Silva, M. C. (2021). Effects of an exercise program on health of people with epilepsy: A randomized clinical trial. *Epilepsy and Behavior*, *117*. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.107904

Holmes, P. v., Reiss, J. I., Murray, P. S., Dishman, R. K., & Spradley, J. M. (2015). Chronic exercise dampens hippocampal glutamate overflow induced by kainic acid in rats. *Behavioural Brain Research*, *284*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.002

Ignácio, Z. M., da Silva, R. S., Plissari, M. E., Quevedo, J., & Réus, G. Z. (2019). Physical Exercise and Neuroinflammation in Major Depressive Disorder. In *Molecular Neurobiology* (Vol. 56, Issue 12). https://doi.org/10.1007/s12035-019-01670-1

Jeon, Y. K., & Ha, C. H. (2015). Expression of brain-derived neurotrophic factor, IGF-1 and cortisol elicited by regular aerobic exercise in adolescents. *Journal of Physical Therapy Science*, *27*(3). https://doi.org/10.1589/jpts.27.737

Kanaani, J., Kolibachuk, J., Martinez, H., & Baekkeskov, S. (2010). Two distinct mechanisms target GAD67 to vesicular pathways and presynaptic clusters. *Journal of Cell Biology*, *190*(5). https://doi.org/10.1083/jcb.200912101

Karimzadeh, F., Jafarian, M., Gharakhani, M., Jahromi, S. R., Mohamadzadeh, E., Khallaghi, B., Kolivand, P. H., Kazemi, H., Coulon, P., & Gorji, A. (2013). Behavioural and histopathological assessment of the effects of periodic fasting on pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Nutritional Neuroscience*, *16*(4). https://doi.org/10.1179/1476830512Y.0000000039

Kleinloog, J. P. D., Mensink, R. P., Ivanov, D., Adam, J. J., Uludağ, K., & Joris, P. J. (2019). Aerobic Exercise Training Improves Cerebral Blood Flow and Executive Function: A Randomized, Controlled Cross-Over Trial in Sedentary Older Men. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *11*. https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00333

Kobow, K., Auvin, S., Jensen, F., Löscher, W., Mody, I., Potschka, H., Prince, D., Sierra, A., Simonato, M., Pitkänen, A., Nehlig, A., & Rho, J. M. (2012). Finding a better drug for epilepsy: Antiepileptogenesis targets. *Epilepsia*, *53*(11), 1868–1876. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03716.x

Kverneland, M., Molteberg, E., Iversen, P. O., Veierød, M. B., Taubøll, E., Selmer, K. K., & Nakken, K. O. (2018). Effect of modified Atkins diet in adults with drug-resistant focal epilepsy: A randomized clinical trial. *Epilepsia*, *59*(8). https://doi.org/10.1111/epi.14457

Lim, B.-V., Shin, M.-S., Lee, J.-M., & Seo, J.-H. (2015). Treadmill exercise prevents GABAergic neuronal loss with suppression of neuronal activation in the pilocarpine-induced epileptic rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, *11*(2). https://doi.org/10.12965/jer.150193

Lin, X. Y., Cui, Y., Wang, L., & Chen, W. (2019). Chronic exercise buffers the cognitive dysfunction and decreases the susceptibility to seizures in PTZ-treated rats. *Epilepsy and Behavior*, *98*. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.07.032

Mares, P., Mirvaldova, H., & Belska, M. (1990). Influence of a new antiepileptic drug ORG 6370 on metrazol-induced seizures in rats during ontogenesis. *Physiologia Bohemoslovaca*, *39*(3).

Melo, C. S., Rocha-Vieira, E., Freitas, D. A., Soares, B. A., Rocha-Gomes, A., Riul, T. R., Mendonça, V. A., Lacerda, A. C. R., Camargos, A. C. R., Carvalho, L. E. D., de Sousa, R. A. L., & Leite, H. R. (2019). A single session of high-intensity interval exercise increases antioxidants defenses in the hippocampus of Wistar rats. *Physiology and Behavior*, *211*. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112675

Nishida, Y., Higaki, Y., Taguchi, N., Hara, M., Nakamura, K., Nanri, H., Imaizumi, T., Sakamoto, T., Horita, M., Shinchi, K., & Tanaka, K. (2014). Objectively measured physical activity and inflammatory cytokine levels in middle-aged japanese people. *Preventive Medicine*, *64*. https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2014.04.004

Obenaus, A., Esclapez, M., & Houser, C. R. (1993). Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures. *Journal of Neuroscience*, *13*(10). https://doi.org/10.1523/jneurosci.13-10-04470.1993

Petersen, A. M. W., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. In *Journal of Applied Physiology* (Vol. 98, Issue 4). https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00164.2004

Pinto, A., di Raimondo, D., Tuttolomondo, A., Butta, C., Milio, G., & Licata, G. (2012). Effects of Physical Exercise on Inflammatory Markers of Atherosclerosis. *Current Pharmaceutical Design*, *18*(28). https://doi.org/10.2174/138161212802481192

Pitkänen, A., & Engel, J. (2014). Past and Present Definitions of Epileptogenesis and Its Biomarkers. In *Neurotherapeutics* (Vol. 11, Issue 2). https://doi.org/10.1007/s13311-014-0257-2

Radahmadi, M., Alaei, H., Sharifi, M. R., & Hosseini, N. (2013). The effect of synchronized forced running with chronic stress on short, mid and long- term memory in rats. *Asian Journal of Sports Medicine*, *4*(1). https://doi.org/10.5812/asjsm.34532

Rana, A., & Musto, A. E. (2018). The role of inflammation in the development of epilepsy. In *Journal of Neuroinflammation* (Vol. 15, Issue 1). https://doi.org/10.1186/s12974-018-1192-7

Reinthaler, E. M., Dejanovic, B., Lal, D., Semtner, M., Merkler, Y., Reinhold, A., Pittrich, D. A., Hotzy, C., Feucht, M., Steinböck, H., Gruber-Sedlmayr, U., Ronen, G. M., Neophytou, B., Geldner, J., Haberlandt, E., Muhle, H., Ikram, M. A., van Duijn, C. M., Uitterlinden, A. G., … Zimprich, F. (2015). Rare variants in γ-aminobutyric acid type A receptor genes in rolandic epilepsy and related syndromes. *Annals of Neurology*, *77*(6). https://doi.org/10.1002/ana.24395

Sarkisian, M. R. (2001). Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. In *Epilepsy and Behavior* (Vol. 2, Issue 3). https://doi.org/10.1006/ebeh.2001.0193

Schwarzer, C., & Sperk, G. (1995). Hippocampal granule cells express glutamic acid decarboxylase-67 after limbic seizures in the rat. *Neuroscience*, *69*(3). https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00348-M

Shishmanova-Doseva, M., Georgieva, K., Koeva, Y., Terzieva, D., & Peychev, L. (2019). Enhancing effect of aerobic training on learning and memory performance in rats after long-term treatment with Lacosamide via BDNF-TrkB signaling pathway. *Behavioural Brain Research*, *370*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111963

Shishmanova-Doseva, M., Georgieva, K., Uzunova, Y., Ioanidu, L., Atanasova, M., Nenchovska, Z., & Tchekalarova, J. (2022). Pre- and Post-Endurance Training Mitigates the Rat Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Epileptogenesis-Associated Deleterious Consequences. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(21). https://doi.org/10.3390/ijms232113188

Shishmanova-Doseva, M., Peychev, L., Koeva, Y., Terzieva, D., Georgieva, K., & Peychev, Z. (2018). Chronic treatment with the new anticonvulsant drug lacosamide impairs learning and memory processes in rats: A possible role of BDNF/TrkB ligand receptor system. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *169*, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.03.009

Sutoo, D., & Akiyama, K. (2003). Regulation of brain function by exercise. In *Neurobiology of Disease* (Vol. 13, Issue 1). https://doi.org/10.1016/S0969-9961(03)00030-5

Szyndler, J., Maciejak, P., Kołosowska, K., Chmielewska, N., Skórzewska, A., Daszczuk, P., & Płaźnik, A. (2018). Altered expression of GABA-A receptor subunits in the hippocampus of PTZ-kindled rats. *Pharmacological Reports*, *70*(1). https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.07.008

Tang, S., Luo, Z., Qiu, X., Zhang, Y., Lu, X., Huang, H., Xu, Z., & Xu, Z. (2017). Interactions between GHRH and GABAARs in the brains of patients with epilepsy and in animal models of epilepsy. *Scientific Reports*, *7*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-017-18416-5

Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., & Sander, J. W. (2019). Epilepsy in adults. In *The Lancet* (Vol. 393, Issue 10172). https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32596-0

Thind, K. K., Yamawaki, R., Phanwar, I., Zhang, G., Wen, X., & Buckmaster, P. S. (2010). Initial loss but later excess of GABAergic synapses with dentate granule cells in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Journal of Comparative Neurology*, *518*(5). https://doi.org/10.1002/cne.22235

Treiman, D. M. (2001). GABAergic mechanisms in epilepsy. *Epilepsia*, *42*(SUPPL. 3). https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.042Suppl.3008.x

Tutkun, E., Ayyildiz, M., & Agar, E. (2010). Short-duration swimming exercise decreases penicillininduced epileptiform ECoG activity in rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, *70*(4). https://doi.org/10.55782/ane-2010-1810

Vezzani, A., & Friedman, A. (2011). Brain inflammation as a biomarker in epilepsy. In *Biomarkers in Medicine* (Vol. 5, Issue 5). https://doi.org/10.2217/bmm.11.61

Vieira, V., Glassmann, D., Marafon, P., Pereira, P., Gomez, R., & Coitinho, A. S. (2016). Effect of diclofenac sodium on seizures and inflammatory profile induced by kindling seizure model. *Epilepsy Research*, *127*. https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.08.020

Viviani, B., Bartesaghi, S., Gardoni, F., Vezzani, A., Behrens, M. M., Bartfai, T., Binaglia, M., Corsini, E., di Luca, M., Galli, C. L., & Marinovich, M. (2003). *Interleukin-1 Enhances NMDA Receptor-Mediated Intracellular Calcium Increase through Activation of the Src Family of Kinases*.

Walker, M. C. (2015). Hippocampal sclerosis: Causes and prevention. *Seminars in Neurology*, *35*(3). https://doi.org/10.1055/s-0035-1552618