

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL MOLISE

Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute “Vincenzo Tiberio”



Dottorato in:

MEDICINA TRASLAZIONALE E CLINICA

XXXIV ciclo

M-EDF/01 Metodi e didattiche delle attività motorie

Tesi di dottorato

“Effetti in acuto ed in cronico di protocolli di attività fisica con l’applicazione dell’elettromiostimolazione whole body sulle prestazioni fisiche, cognitive e sulle variazioni dei fattori di crescita in soggetti affetti da Parkinson”

Tutor

Chiar.mo Prof.re

Giuseppe CALCAGNO

Coordinatore Dottorato

Chiar.mo Prof.re

Giovanni SCAPAGNINI

Candidato

Dott. Andrea BUONSENSO

Matricola n. 164334

Anno accademico 2020/2021

INDICE

Abstract ENG	4
Abstract ITA	6
Capitolo 1	9
1. Malattia di Parkinson	9
1.1. Definizione ed epidemiologia.....	9
1.2. Diagnosi	10
1.3. Fattori di rischio.....	14
1.3.1. Pesticidi.....	15
1.3.2. Occupazione.....	15
1.3.3. Lesione cerebrale traumatica.....	15
1.3.4. Fattori metabolici.....	16
1.4. Fattori attenuanti.....	16
1.4.1. Caffèina.....	16
1.4.2. Fumo di sigaretta.....	17
1.4.3. Consumo di alcool.....	17
1.4.4. Farmaci antiinfiammatori non steroidei.....	17
1.4.5. Statine.....	17
1.4.6. Bloccanti dei canali del calcio.....	18
1.4.7. Iperuremici.....	18
1.4.8. Esercizio fisico.....	18
1.5. Patogenesi.....	19
1.5.1. Neuropatologia	20
1.5.2. Neurogenetica.....	21
1.5.3. Patogenesi molecolare.....	22
1.5.4. Proteostasi della α -sinucleina.....	22
1.5.5. Degradazione dell' α -sinucleina.....	23
1.5.6. Propagazione di tipo prionico della patologia α -sinucleina.....	25
1.5.7. Disfunzione mitocondriale.....	26
1.5.8. Stress ossidativo.....	27
1.5.9. Neuroinfiammazione.....	27
1.5.10. Fisiopatologia del circuito motorio nel PD.....	28

1.6. Sintomatologia.....	30
1.6.1. Sintomi motori.....	31
1.6.2. Sintomi non motori.....	33
1.7. Prognosi.....	36
Capitolo 2.....	39
2. Attività fisica e Parkinson.....	39
2.1. Attività fisica e malattie neurodegenerative.....	39
2.2. Benefici dell'attività fisica sul Parkinson.....	40
2.2.1. Effetti sui sintomi motori.....	44
2.2.2. Effetti sui sintomi non motori.....	45
2.3. Effetti di diverse tipologie di allenamento.....	46
2.4. Influenza dell'esercizio fisico sui fattori neurotrofici.....	48
2.4.1. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF).....	49
2.4.2. Nerve growth factor precursor (proNGF).....	50
2.4.3. Fibroblast growth factor 21 (FGF-21).....	51
2.5. Influenza dell'esercizio fisico sull'alfa-sinucleina.....	52
Capitolo 3.....	54
3. Whole Body ElectroMyoStimulation (WB-EMS).....	54
3.1. Definizione.....	54
3.2. Evidenze scientifiche.....	55
3.2.1. Effetti sui fattori di rischio e sulle malattie muscoloscheletriche.....	55
3.2.2. Effetti sulla forza muscolare, sulla capacità funzionale e sui parametri correlati...	57
3.2.3. Effetti sui fattori di rischio cardio-metabolici.....	58
3.2.4. Fattori di rischio e controindicazioni.....	59
Capitolo 4.....	61
4. Studio sperimentale in acuto.....	61
4.1. Premessa.....	61
4.2. Introduzione.....	61
4.3. Materiali e metodi.....	64
4.3.1. Disegno dello studio.....	64
4.3.2. Partecipanti.....	64

4.3.3. Procedure sperimentali.....	65
4.3.4. Strumentazione.....	67
4.3.5. Valutazione di base.....	67
4.3.6. Analisi statistica.....	68
4.4. Risultati.....	69
4.4.1. Performance fisiche.....	69
4.4.2. Fattori neurotrofici.....	71
4.5. Discussione.....	74
4.5.1. Limitazioni.....	77
4.6. Conclusioni.....	77
Capitolo 5.....	79
5. Studio sperimentale in cronico.....	79
5.1. Premessa.....	79
5.2. Materiali e metodi.....	79
5.2.1. Disegno dello studio.....	79
5.2.2. Partecipanti.....	79
5.2.3. Procedure sperimentali.....	81
5.2.4. Strumentazione.....	82
5.2.5. Valutazione di base.....	83
5.2.6. Analisi statistica.....	86
5.3. Risultati.....	87
5.3.1. Performance fisiche.....	87
5.3.2. Performance cognitive.....	88
5.3.3. Livelli dei fattori neurotrofici.....	89
5.4. Discussioni.....	90
5.4.1. Performance fisiche.....	90
5.4.2. Performance cognitive.....	93
5.4.3. Livelli di fattori neurotrofici.....	96
5.5. Conclusioni.....	97
Bibliografia.....	100

Abstract ENG

Patients with Parkinson's disease (PD) lead a sedentary lifestyle, unable or unwilling to adhere to traditional motor activity programmes, due to physical and mental limitations. Yet the effects of physical exercise to improve motor and non-motor symptoms and slow the progression of the disease are universally known: from the reduction of selective neurodegeneration of dopaminergic neurons to the adaptive neuroplasticity conferred by movement, from structural modifications such as neurogenesis or synaptogenesis to reduction of oxidative stress and release of neurotrophic factors. Finally, exercise promotes a better absorption of the levodopa always present in the therapy of Parkinson's patients. Therefore, it is needed to find a training methodology for them that provides an immediate feeling of well-being that gives them motivation and perseverance, with a convenient ratio between spent time and exercise efficacy. This is the first study evaluating the application of electromyostimulation training (WB-EMS) on subjects with Parkinson's disease. For this reason, this project was organised in two studies, an acute pilot study and a chronic study. The aim of the pilot study was to evaluate the patients' reaction to this new training methodology and to find the most suitable and safe type of stimulation for these subjects. A training protocol proposed by the company Miha Bodytec was administered. Ten subjects (age 72.60 ± 6.82) were recruited for the acute study and underwent 20 min of physical activity with the superimposition of WB-EMS (WB-EMS) and, after four weeks, performed the same protocol without WB-EMS (no WB-EMS). Electromyostimulation was administered by intermittent stimulation, with 4 s WB-EMS/4 s rest, at 85 Hz, 350 µs. During the stimulation, patients were asked to perform a maximal isometric contraction. A fitness assessment and blood sample collection was performed to assess the levels of neurotrophic factors (BDNF, FGF21, proNGF, mNGF); samples were collected before, after 15min and 60min to end of the intervention. The RM-ANOVA showed significant improvements in sit to stand ($p < 0.01$), arm curl ($p < 0.01$), handgrip ($p < 0.01$) and soda pop test ($p < 0.01$) after WB-EMS intervention. Higher serum levels of proNGF were observed in the WB-EMS condition compared to no WB-EMS after 60 min post-intervention ($p = 0.0163$). The effect of WB-EMS confirmed the ability of electrostimulation to modulate the amount of proNGF. The positive impact of the WB-EMS protocol on physical functioning, and oculo-manual coordination, makes this intervention a promising strategy to improve motor and non-motor symptoms in PD patients. This study showed that neurotrophic factors, strongly correlated with cognitive improvement and walking ability, were not particularly stimulated. For this reason, we have decided to introduce another training protocol for the next phase of our study: the aerobic training.

The aim of the chronic study was to find the most suitable and effective training methodology for this population. Twenty-five subjects (age 72.08 ± 6.07) were recruited for this study. They were randomly assigned to three groups: Strength Training Group (STG) (age 72.37 ± 7.40), Endurance Training Group (ETG) (age 72.89 ± 2.76) and Control Group (CON) (age 70.87 ± 7.77). The STG group performed the training as in the acute study (duration 20min, intermittent stimulation, with 4 s WB-EMS/4 s rest, at 85 Hz, 350 μ s). The progression of the training was programmed every 3 weeks. The ETG group underwent 20 min of aerobic training on a remergometer combined with a superimposed and supervised WB-EMS stimulus using the metabolic protocol (rectangular stimulation at 7 Hz, 350 μ s, continuous pulse duration). The progression of the training was programmed on the basis of the heart rate reserve (HRR) starting at 60% HRR in the first week, increasing the intensity by 5% every 3 weeks, up to 80%HRR in 12th week. The CON group did not carry out any kind of training. Before and at the end of the trial, physical fitness and cognitive performances were assessed and blood samples were collected to assess the levels of neurotrophic factors (BDNF, FGF21) and α -synuclein levels. The RM-ANOVA showed significant improvements in both ETG and STG groups in arm curl (both ps= 0.003) and sit to stand (p= 0.004 and p= 0.030 respectively). In addition, the ETG group was able to cover a greater distance in the 6-minute walk test than the pre-intervention (p< 0.001) and than STG group (p= 0.004). The same result emerged for the Tinetti balance and gait test, where the ETG group showed higher balance and walking ability than the pre-intervention (p< 0.001) and than STG group (p= 0.002). With regard to cognitive performance, results showed an improvement in general cognitive function (MMSE) both in the ETG group (p= 0.002) and in the STG group (p= 0.010). Another important result concerns the perception of fatigue (PFS-16), where the ETG group reported a lower fatigue than ETG (p= 0.013) and CON (p< 0.001) groups; in addition, the CON group reported a higher perception of fatigue than pre-intervention (p= 0.032). Lower serum levels of α -synuclein were observed after ETG training (p= 0.037). In contrast, higher serum levels of FGF-21 were observed after ETG training (p= 0.023). WB-EMS training is an effective and well-tolerated training strategy for Parkinson's patients. Endurance training combined with WB-EMS was more effective than strength training in improving physical fitness, cognitive performances and the level of neurotrophic factors, which is correlated with an improvement in global cognitive function and severity of Parkinson's disease. The FGF plays a crucial role in the survival of neurons as well as in neuroinflammation and mitochondrial dysfunctions caused by abnormal aggregation of α -synuclein. FGF21 in fact reduces the accumulation of alpha synuclein, reducing its toxicity. Moreover, this endocrine hormone easily crosses the blood-brain barrier by simple diffusion, increasing its protection factor.

Abstract ITA

I pazienti con malattia di Parkinson (PD) conducono uno stile di vita sedentario, non potendo o non volendo aderire a programmi di attività motoria tradizionali, a causa di limitazioni fisiche e mentali. Eppure gli effetti dell'esercizio fisico per migliorare i sintomi motori e non motori, e rallentare la progressione della malattia sono universalmente noti: dalla riduzione della neurodegenerazione selettiva dei neuroni dopaminergici alla neuroplasticità adattativa conferita dal movimento, da modifiche strutturali come la neurogenesi o la sinaptogenesi alla riduzione dello stress ossidativo e al rilascio di fattori neurotrofici. Infine, l'esercizio favorisce un migliore assorbimento della levodopa sempre presente nella terapia dei pazienti di Parkinson. Pertanto, è necessario trovare una metodologia di allenamento per loro che induca una sensazione immediata di benessere e che dia loro motivazione e perseveranza, con un rapporto conveniente tra tempo di allenamento ed efficacia dell'esercizio. Questo è il primo studio che valuta l'applicazione di un allenamento con elettromiostimolazione (WB-EMS) su soggetti affetti da Parkinson. Per questo motivo il presente progetto è stato organizzato in due lavori, uno studio pilota in acuto e uno studio in cronico. Lo studio pilota ha avuto lo scopo di valutare la reazione dei soggetti a questa nuova metodica di allenamento e di trovare la tipologia di stimolazione più adatta e sicura per questi soggetti. È stato utilizzato un protocollo di allenamento già proposto dall'azienda Miha Bodytec. Dieci soggetti (età 72,60 ± 6,82) sono stati reclutati per lo studio in acuto e sono stati sottoposti a 20 min di attività fisica con la superimposizione delle WB-EMS (WB-EMS) e, dopo quattro settimane, hanno eseguito lo stesso protocollo senza WB-EMS (no WB-EMS). L'elettromiostimolazione è stata somministrata con una stimolazione intermittente, con 4 s WB-EMS/4 s riposo, a 85 Hz, 350 μ s. Durante la fase on della stimolazione è stato chiesto ai pazienti di effettuare una contrazione massimale isometrica. È stata effettuata una valutazione della forma fisica e una raccolta di campioni di sangue, per valutare i livelli di fattori neurotrofici (BDNF, FGF21, proNGF, mNGF); i prelievi sono stati raccolti prima, dopo 15min e dopo 60min dal termine dell'intervento. L'RM-ANOVA ha mostrato miglioramenti significativi nel sit-to-stand ($p < 0,01$), arm curl ($p < 0,01$), handgrip ($p < 0,01$) e soda pop test ($p < 0,01$) dopo l'intervento con WB-EMS. Livelli sierici più alti di proNFG sono stati osservati nella condizione WB-EMS rispetto al no WB-EMS dopo 60 min post-intervento ($p = 0.0163$). L'effetto della WB-EMS ha confermato la capacità dell'elettrostimolazione di modulare la quantità di proNGF. L'impatto positivo del protocollo WB-EMS sul funzionamento fisico, e la coordinazione oculo-manuale, rende questo intervento una strategia promettente per migliorare i sintomi motori e non-motori nei pazienti PD. Questo studio ha dimostrato che i fattori neurotrofici, fortemente correlati con il miglioramento

cognitivo e la capacità di camminare, non erano particolarmente stimolati. Per questo motivo, abbiamo deciso di introdurre un altro protocollo di allenamento per la prossima fase del nostro studio: l'allenamento aerobico.

Lo studio in cronico ha avuto lo scopo di ricercare la metodica di allenamento più adatta ed efficace per questo target di popolazione. Venticinque soggetti (età 72.08 ± 6.07) sono stati reclutati per questo studio. Sono stati assegnati in modo casuale in tre gruppi: Strength Training Group (STG) (età $72,37 \pm 7,40$), Endurance Training Group (ETG) (età $72,89 \pm 2,76$) e gruppo di Controllo (CON) (età $70,87 \pm 7,77$). Il gruppo STG ha eseguito lo stesso allenamento che è stato effettuato nello studio in acuto (durata 20min, stimolazione intermittente, con 4 s WB-EMS/4 s riposo, a 85 Hz, 350 μ s). La progressione dell'allenamento è stata programmata ogni 3 settimane. Il gruppo ETG è stato sottoposto a 20 minuti di allenamento aerobico su remoergometro combinata ad uno stimolo WB-EMS sovrapposto e supervisionato utilizzando il protocollo metabolico (stimolazione rettangolare a 7 Hz, 350 μ s, durata dell'impulso continua). L'intensità di questa tipologia di allenamento è stata programmata sulla base della frequenza cardiaca di riserva (HRR) iniziando dal 60%HRR nella prima settimana, incrementando l'intensità del 5% ogni 3 settimane, fino ad arrivare all'80%HRR nella 12 settimana. Il gruppo CON non è stato sottoposto ad alcuna tipologia di allenamento. Prima e al termine della sperimentazione, è stata effettuata una valutazione della forma fisica, delle performance cognitive e una raccolta di campioni di sangue, per valutare i livelli di fattori neurotrofici (BDNF, FGF21) e i livelli di α -sinucleina. L'RM-ANOVA ha mostrato miglioramenti significativi sia nel gruppo ETG che STG nell'arm curl (entrambe le $p= 0.003$) e nel sit to stand ($p= 0.004$ e $p= 0.030$ rispettivamente). In aggiunta, il gruppo ETG è stato in grado di coprire una maggiore distanza nel test del cammino di 6 minuti rispetto al pre intervento ($p< 0.001$) e al gruppo STG ($p= 0.004$). Lo stesso risultato è emerso per il test di equilibrio e andatura di Tinetti, dove il gruppo ETG ha mostrato maggiore equilibrio e capacità di cammino rispetto al pre intervento ($p< 0.001$) e al gruppo STG ($p= 0.002$). Per quanto riguarda le performance cognitive, i risultati evidenziano un miglioramento della funzionalità cognitiva generale (MMSE) sia nel gruppo ETG ($p= 0.002$) che nel gruppo STG ($p= 0.010$). Un altro risultato importante riguarda la percezione della fatica (PFS-16), dove il gruppo ETG ha riportato un minor senso di fatica rispetto al gruppo ETG ($p= 0.013$) e CON ($p< 0.001$); inoltre, il gruppo CON ha riportato una maggiore percezione della fatica rispetto al pre intervento ($p= 0.032$). Livelli sierici più bassi di α -sinucleina sono stati osservati dopo l'allenamento ETG ($p= 0.037$). Al contrario, livelli sierici più alti di FGF-21 sono stati osservati dopo l'allenamento ETG ($p= 0.023$). L'allenamento con WB-EMS è risultata una strategia di allenamento efficace e ben tollerata dai

soggetti affetti da Parkinson. L'allenamento aerobico con la superimposizione di WB-EMS è risultato essere più efficace dell'allenamento di forza nel migliorare la forma fisica, le performance cognitive e il livello di fattori neurotrofici, correlati ad un miglioramento della funzionalità cognitiva globale e alla severità della patologia del Parkinson. L'FGF gioca un ruolo cruciale nella sopravvivenza dei neuroni così come nella neuroinfiammazione e nelle disfunzioni mitocondriali causate dall'aggregazione anomala di α -sinucleina. L'FGF-21 riduce infatti l'accumulo di α -sinucleina, riducendo la sua tossicità. Inoltre, questo ormone endocrino attraversa facilmente la barriera emato-encefalica per semplice diffusione, aumentando il suo fattore di protezione.

CAPITOLO 1

1. Malattia di Parkinson

1.1. Definizione ed epidemiologia

Le patologie neurologiche sono la principale fonte di disabilità in tutto il mondo, e la prevalenza della malattia di Parkinson sta aumentando più rapidamente di altri disturbi neurologici (De Lau and Breteler, 2006). La sua prima descrizione fu elaborata quasi due secoli fa, nel 1817, da James Parkinson nel suo “Saggio sulla Paralisi Tremante”, delineando i principali segni motori della patologia: bradicinesia, rigidità e tremore (Tysnes and Stortein, 2017).

La malattia di Parkinson (PD) è il secondo disturbo neurodegenerativo più comune dopo la malattia di Alzheimer (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). Il principale fattore di rischio noto è l'aumento dell'età. La malattia di Parkinson non è comune tra gli individui di età inferiore ai 50 anni e aumenta con l'età, con un picco tra gli 85 e gli 89 anni (Parkinson's Disease Collaborators, 2016). Si stima che 6,1 milioni di individui a livello globale abbiano avuto una diagnosi di malattia di Parkinson nel 2016, 2,4 volte superiore a quella del 1990 (Parkinson's Disease Collaborators, 2016). Le stime dell'incidenza mondiale vanno da 5/100.000 a oltre 35/100.000 nuovi casi all'anno (Twelves, 2003). Questo aumento della prevalenza è stato attribuito al miglioramento dei metodi utilizzati per rilevare e diagnosticare la malattia di Parkinson, alla maggiore consapevolezza della malattia, all'invecchiamento della popolazione, all'allungamento dell'aspettativa di vita e forse all'aumento delle esposizioni ambientali (per esempio, pesticidi, solventi, metalli) associate all'industrializzazione (Parkinson's Disease Collaborators, 2016). Circa 930.000 persone vivono con una diagnosi di malattia di Parkinson negli Stati Uniti nel 2020 (Marras, 2018). Esistono differenze di genere nel PD (Gillies, 2014) (Figura 1) (Poewe, 2017).

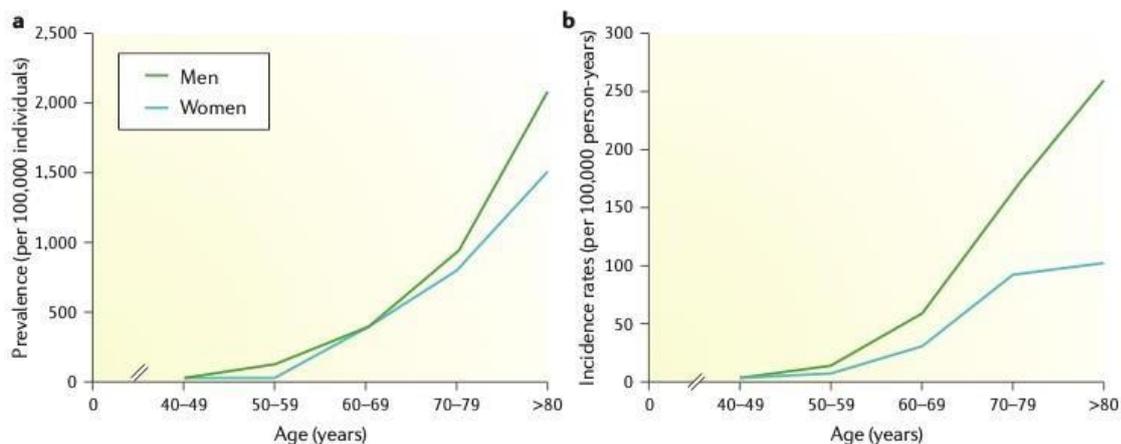


Figura 1. Differenze di genere nel Parkinson (Poewe, 2017).

La malattia di Parkinson è più comune negli uomini (rapporto maschio-femmina 1,4:1,0). L'età di insorgenza è 2,1 anni più tardiva nelle donne (53,4 anni) rispetto agli uomini (51,3 anni). Le donne presentano un fenotipo di PD più lieve, come evidenziato da una maggiore presentazione di tremore (67%) rispetto agli uomini (48%) e un tasso più lento di compromissione motoria. Gli studi sugli animali suggeriscono che gli estrogeni possono svolgere un ruolo neuroprotettivo contro la morte dei neuroni dopaminergici striatali. I sintomi non motori che sono prevalenti nelle donne sono ansia, depressione e costipazione, mentre gli uomini soffrono di più di sonnolenza diurna, bava e disfunzioni sessuali (Martinez-Martin, 2013). La maggior parte dei casi di malattia di Parkinson è idiopatica, ma sono noti contributi genetici e ambientali (Kouli, 2019). In alcuni studi epidemiologici, l'esposizione a pesticidi, erbicidi e metalli pesanti è collegata a un aumento del rischio di malattia di Parkinson, mentre il fumo e l'uso di caffeina sono associati a una riduzione del rischio (Kouli, 2019).

La malattia di Parkinson è il tipo più comune di parkinsonismo, un termine che riflette un gruppo di disturbi neurologici con problemi di movimento simili alla malattia di Parkinson, come rigidità, lentezza e tremore. I parkinsonismi meno comuni includono altre malattie neurodegenerative (per esempio, atrofia del sistema multiplo, paralisi sopranucleare progressiva), parkinsonismo indotto da farmaci e parkinsonismo vascolare. Sono emersi sottotipi di PD, con pazienti classificati in base a caratteristiche cliniche distinte, come il fenotipo motorio o l'età di esordio (Thengannat, 2014). I pazienti che presentano tremore all'esordio hanno una progressione più lenta della malattia rispetto a quelli con un fenotipo di difficoltà del cammino/instabilità posturale (PIGD) (Jankovic, 2001). La forma PIGD del PD è associata a un più rapido tasso di declino cognitivo e una maggiore incidenza di demenza, mentre i soggetti con PD a predominanza di tremore iniziano a mostrare segni di demenza solo dopo lo sviluppo dei sintomi della PIGD (Alves, 2006). I pazienti con PD ad esordio tardivo (età >60 anni) sono spesso caratterizzati dal sottotipo PIGD (Wickremaratchi, 2011), mentre la PD ad insorgenza giovane (età 20-40 anni) si presenta più spesso con tremore, rigidità, distonia e un più alto tasso di complicazioni motorie legate alla levodopa, come le discinesie (Thengannat, 2014).

1.2. Diagnosi

Sebbene i neurologi siano generalmente d'accordo sul fatto che la diagnosi clinica della malattia di Parkinson (PD) richieda l'identificazione di una qualche combinazione dei segni motori cardinali di discinesia, rigidità, tremore e stabilità posturale, pochi hanno cercato di sviluppare criteri diagnostici rigorosi che possano essere applicati in modo coerente e valutati per

l'affidabilità. Norme diagnostiche ampiamente accettate sono particolarmente importanti in questo momento di rapido sviluppo delle modalità diagnostiche e terapeutiche. Attualmente, solo circa il 75% delle diagnosi cliniche di PD sono confermate all'autopsia (Jellinger, 1996; Hughes, 1993) in gran parte perché i segni cardinali possono verificarsi anche in condizioni diverse dal PD; sono quindi definiti "segni extrapiramidali", "caratteristiche parkinsoniane" o "parkinsonismo".

La diagnosi della malattia di Parkinson si basa principalmente sull'anamnesi e sull'esame fisico (Figura 2).

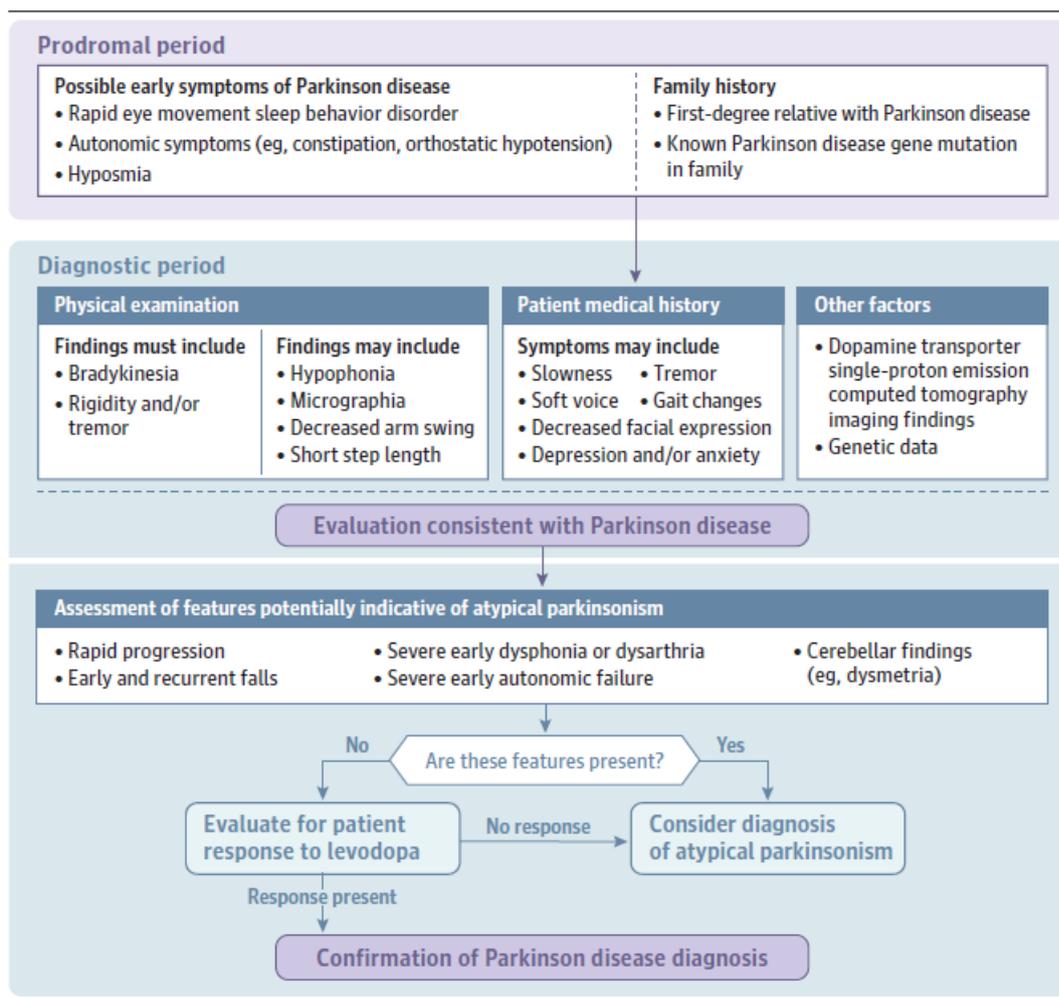


Figura 2. Approccio per la diagnosi di Parkinson (Armstrong et al., 2020)

L'anamnesi dovrebbe valutare i sintomi motori e non motori. L'anamnesi familiare di un parente di primo grado con malattia di Parkinson aumenta la probabilità di una diagnosi di malattia di Parkinson (Berg, 2015). I criteri diagnostici clinici per la malattia di Parkinson richiedono che un individuo abbia parkinsonismo, definito come bradicinesia con tremore a riposo, rigidità o entrambi (Postuma, 2015). Per la malattia di Parkinson clinicamente accertata (cioè, basata sulla

presentazione clinica ma non sulla conferma patologica), gli individui devono anche soddisfare almeno 2 dei 4 criteri di supporto:

- tremore a riposo,
- un netto miglioramento con la terapia dopaminergica (per esempio, carbidopalevodopa),
- la presenza di discinesie indotte da levodopa,
- la presenza di perdita olfattiva o di denervazione simpatica cardiaca alla scintigrafia miocardica con iodio-123-meta-iodobenzilguanidina (un test di imaging che valuta l'assorbimento della norepinefrina cardiaca, che dipende dalla funzione intatta dei neuroni simpatici postgangliari [diminuita nella malattia di Parkinson]) (Postuma, 2015).

Le discinesie sono movimenti involontari coreoatetoidi simili alla danza che si verificano con la terapia dopaminergica. Le discinesie di solito si verificano anni dopo l'inizio dei farmaci per la malattia di Parkinson e hanno un beneficio limitato per la diagnosi all'esordio dei sintomi (Ahlskog, 2001). In alcuni contesti, la malattia di Parkinson non può essere confermata se i farmaci possono essere responsabili dei segni e dei sintomi del paziente o se ulteriori reperti suggeriscono una diagnosi alternativa (Tabella 1) (Postuma, 2015).

Tabella 1. Settings in which Parkinson disease cannot be confirmed^a (Armstrong et al., 2020)

Table 3. Settings in Which Parkinson Disease Cannot Be Confirmed^a

Patient Characteristic	Possible Alternative Diagnosis
Use of dopamine-blocking medication (eg, metoclopramide, prochlorperazine, promethazine, antipsychotic medications)	Drug-induced parkinsonism
Symptoms limited to the legs for more than 3 years	Vascular parkinsonism
Trouble looking down during the examination process	Progressive supranuclear palsy
Cerebellar findings	Multiple system atrophy

^a In some settings, Parkinson disease cannot be confirmed if medications may be responsible for the the patient's signs and symptoms or if additional findings suggest an alternative diagnosis. For additional information, see Postuma et al.¹⁹

La tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo del trasportatore di dopamina (DaT SPECT) identifica la disfunzione neuronale presinaptica della dopamina presinaptica presente nella malattia di Parkinson e in altri parkinsonismi neurodegenerativi dimostrando un ridotto assorbimento di un tracciante radioattivo che si lega ai trasportatori di dopamina nei gangli della base. La DaT SPECT è altamente accurata (98%-100% sensibilità e specificità) nel rilevare la perdita di cellule nigrostriatali in individui con parkinsonismo (Suwjin, 2015). Nel 2011, la US Food and Drug Administration (FDA) ha approvato l'imaging DaT SPECT per distinguere Parkinson dal tremore essenziale, ma queste scansioni non sono necessarie di routine. Le scansioni DaT sono generalmente utili solo quando la presenza di parkinsonismo è incerta all'esame. Se un paziente ha un parkinsonismo inequivocabile, le scansioni sono tipicamente positive e aggiungono

poco alla valutazione diagnostica (Isaacson, 2017; Bajaj, 2013). Esse non non possono differenziare la malattia di Parkinson da altri parkinsonismi (per esempio, atrofia del sistema multiplo, paralisi sopranucleare progressiva paralisi sopranucleare progressiva) che coinvolgono anche la disfunzione del trasportatore della dopamina.

La storia naturale della disabilità e la progressione dei sintomi motori nel PD è stata ben studiata fin dall'articolo seminale di Hoehn e Yahr (1967). La scala Hoehn e Yahr (H&Y) è il sistema più comunemente usato per descrivere la progressione del PD (Figura 3).

1.0: Unilateral involvement only
1.5: Unilateral and axial involvement
2.0: Bilateral involvement without impairment of balance
2.5: Mild bilateral disease with recovery on pull test
3.0: Mild to moderate bilateral disease; some postural instability; physically independent
4.0: Severe disability; still able to walk or stand unassisted
5.0: Wheelchair bound or bedridden unless aided

Figura 3. Scala Hoehn e Yahr (1967).

È una sistema di classificazione della patologia in base al loro grado di disabilità in cinque categorie (Stadio I-V):

- Stadio I. interessamento unilaterale con compromissione funzionale minima o assente.
- Stadio II. Coinvolgimento bilaterale senza disturbi dell'equilibrio.
- Stadio III. Interessamento da lieve a moderato con presenza di una certa instabilità posturale, ma è fisicamente indipendente.
- Stadio IV. Disabilità grave, anche se risulta ancora capace di stare in piedi o di camminare senza assistenza
- Stadio V. Paziente che necessita di supporti come sedia a rotelle o allettato in assenza di aiuto (Hoehn e Yahr, 1967).

Il passaggio dallo stadio II allo stadio III della scala H&Y è considerato una pietra miliare nel PD quando la compromissione dell'andatura e dell'equilibrio si traduce in disabilità in molte attività dipendenti dall'andatura come camminare, vestirsi, lavarsi e fare i lavori domestici. In uno studio longitudinale, il tempo per raggiungere la scala H&Y III era di 7,73 anni (Duarte, 2015). Il sesso maschile, il disturbo dell'andatura, la mancanza di tremore e la mancanza di asimmetria come caratteristiche cliniche di presentazione sono associati con una più scarsa sopravvivenza a lungo termine (Diem Zangerl, 2009).

In seguito, sono state proposte scale più differenziate che non considerano solo la compromissione funzionale, tra cui la Unified Parkinson Disease Rating Scale (UPDRS) e una forma modificata proposta dalla Movement Disorder Society (MDS-UPDRS). L'UPDRS è un metodo di valutazione sviluppato per poter incorporare gli elementi di diverse scale esistenti, così da fornire un mezzo completo, efficiente e flessibile per monitorare la disabilità e la menomazione correlata alla PD. La scala prevede la valutazione di quattro domini: esperienze non motorie della vita quotidiana (parte I), attività motorie della vita quotidiana (parte II), esame motorio (parte III) ed infine le complicanze motorie (parte IV) (Movement Disorder Society Task Force on Rating Scales for Parkinson's Disease, 2003). Sulla base dei punteggi ottenuti nella scala, PD può essere classificato in lieve, moderato e grave a seconda di alcuni cut off, per ognuna delle parti dell'UPDRS, che consentono di distinguere tra patologia lieve e moderata o tra moderata e grave (Figura 4).

MDS-UPDRS	Method			Triangulation cut-off values
	Centile 90	ROC	OLR	
<i>Part 1</i>				
Mild/moderate	11/12	8/9	11.4/11.5	10/11
Moderate/severe	20/21	23/24	20.5/20.6	21/22
<i>Part 2</i>				
Mild/moderate	12/13	12/13	13.5/13.6	12/13
Moderate/severe	28/29	30/31	29.2/29.3	29/30
<i>Part 3</i>				
Mild/moderate	35/36	27/28	33.4/33.5	32/33
Moderate/severe	57/58	57/58	60.5/60.6	58/59
<i>Part 4</i>				
Mild/moderate	3/4	4/5	4.5/4.6	4/5
Moderate/severe	11/12	13/14	11.4/11.5	12/13

ROC: receiver operating characteristic analysis.

OLR: ordinal logistic regression.

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

Figura 4. MDS-UPDRS (Martínez-Martín et al., 2015).

Martínez-Martín et al (2015), propongono di utilizzare i valori nella colonna "Valori di cut-off di triangolazione" nella Figura 1 per classificare la condizione dei pazienti con PD come lieve, moderata o grave sulla base dei loro punteggi MDS-UPDRS.

1.3. Fattori di rischio

La causa o le cause scatenanti il Parkinson Disease (PD) non sono state stabilite con certezza e, come la maggior parte delle malattie croniche, ci si aspetta che sia una combinazione di fattori modificabili (ad esempio, le esposizioni ambientali che aumentano o riducono il rischio) e non modificabili (ad esempio, fattori genetici). Comprendere le cause modificabili è vitale per una politica di salute pubblica di gestione del PD. Tuttavia, esistono dati contrastanti per la maggior

parte di questi fattori che rendono difficile formulare una risposta di salute pubblica senza ulteriori studi.

1.3.1. Pesticidi

L'osservazione che la 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP), un sottoprodotto accidentale della produzione dell'oppioide sintetico 1-metil-4-fenil-4 propionossipiperidina (MPPP) potrebbe causare un fenotipo di PD ha suscitato interesse nella possibilità che anche altre tossine ambientali possano essere dannose per le cellule dopaminergiche (Brown, 2014). Sono state sospettate tossine simili all'MPTP, compresi 2 pesticidi, paraquat e rotenone. La maggior parte dei dati umani riguardanti la relazione tra questi e altri pesticidi proviene da studi caso-controllo in cui i pazienti e i controlli sono stati raccolti tramite un questionario sulle loro esposizioni. La raccolta dei dati varia ampiamente tra gli studi nel livello di dettaglio riguardante la quantità e il tipo di esposizione così come l'analisi dei fattori di confondimento, come il fumo, che ha dimostrato di avere un effetto protettivo (Moretto, 2013)

1.3.2. Occupazione

Alcuni studi hanno dimostrato che l'agricoltura come occupazione può conferire un aumento del rischio di PD, anche se è difficile da separare questa concausa dall'esposizione ai pesticidi. Anche la saldatura, con la sua esposizione al manganese, è stata studiata come fattore di rischio per il PD. Un interessante studio recente sulla storia professionale di casi e controlli ha rilevato che le occupazioni artistiche tendono a dimostrarsi un fattore protettivo per il PD. L'ipotesi data per questa scoperta è che i pazienti con PD premotora e bassi livelli di dopamina possono avere sottili cambiamenti cognitivi e comportamentali che limitano la ricerca di novità e, che invece risulta stimolata da occupazioni che stimolino la creatività (Haaxma, 2015).

1.3.3. Lesione cerebrale traumatica

La lesione cerebrale traumatica (TBI) sembra possa predisporre una persona a sviluppare con maggiore probabilità il PD più tardi nella vita. I risultati di recenti studi tuttavia evidenziano risultati discordanti su questo tema. Gardner e colleghi (2015) seguendo le cartelle cliniche dei pazienti che si sono presentati ad un dipartimento di emergenza, e distinguendo coloro che presentavano un trauma cranico rispetto ad altri con un trauma che non aveva coinvolto la testa hanno rilevato che i pazienti con TBI avevano una maggiore probabilità di sviluppare il PD più tardi nella vita. In un altro studio sono stati somministrati questionari a pazienti con PD e ad un

gruppo di controllo rilevando che non si evidenziava una maggiore storia di TBI nella popolazione con PD (Kenborg, 2015).

1.3.4. Fattori Metabolici

Il BMI gioca un ruolo importante tra i fattori di rischio del PD. Una metanalisi ha dimostrato che essere in sovrappeso (BMI di 25-30 kg/m²) potrebbe essere un potenziale fattore di rischio per la patologia, imputabile ad una minore disponibilità dei recettori di dopamina nel corpo striato. Lo stesso discorso si può associare ad un BMI inferiore di 25 kg/m², per una densità minore dei neuroni dopaminergici nigrostriatali (Jeong et al., 2020).

Un altro potenziale fattore di rischio è il Diabete Mellito di Tipo II, a causa delle sue interferenze fisiopatologiche come la disfunzione mitocondriale, l'attivazione della cascata infiammatoria e la produzione di insulina aberrante. Inoltre, alcuni studi hanno dimostrato che il polipeptide amiloide insulare (IAPP) può cross reagire con α -sinucleina e accelerarne la sua aggregazione. Inizialmente tale aggregazione è localizzata nel pancreas, ma la durata della patologia porta a un accumulo a livello nigrostriatale con conseguenze sulle funzioni motorie. Questa ipotesi potrebbe spiegare la relazione tra diabete e Morbo di Parkinson (Jeong et al., 2020). L'introito alimentare è tra i fattori segnalati per l'insorgenza di PD. Una dieta di tipo mediterraneo, con assunzione di vitamina B6 beta carotene, ferro, magnesio, zinco e vitamina E sono associate ad un effetto contrastante l'insorgenza della malattia. Di contro, una dieta ricca di colesterolo e grassi ha un alto rischio di insorgenza della patologia (Martino et al., 2017).

1.4. Fattori attenuanti

1.4.1. Caffaina

Il primo suggerimento che la caffeina potrebbe essere protettiva nel PD è arrivato nel 1996 con uno studio basato su un questionario che esaminava l'ingestione di alimenti specifici in modo controllato. I pazienti con PD hanno riferito di bere meno caffè rispetto ai controlli (Hellenbrand, 1996). Questo studio è stato seguito da una raccolta di dati prospettici. In 2 grandi coorti seguite nel tempo, è stata trovata un'associazione inversa tra PD e consumo di caffeina sotto forma di caffè, tè e altre fonti di caffeina (Braak, 2006). Raccomandare la caffeina per i pazienti che hanno già il PD può essere difficile perché la caffeina può peggiorare il tremore. Molecolarmente, la caffeina inibisce il recettore dell'adenosina, e da allora sono stati sviluppati inibitori dell'adenosina per il trattamento della PD.

1.4.2. Fumo di sigaretta

Numerosi studi hanno identificato un'associazione inversa tra fumo e PD. Poiché il fumo di per sé non può essere raccomandato ai pazienti con PD, in quanto presenta numerosi rischi per la salute, i ricercatori hanno cercato di sfruttare l'effetto apparentemente protettivo del fumo in altri modi. Tuttavia, l'affermazione che il fumo sia protettivo nella PD è stata messa in discussione da un recente studio che ha suggerito che i pazienti con PD hanno tassi di fumo più bassi perché i bassi livelli di dopamina rendono più facile smettere e più difficile diventare dipendenti (Ritz, 2014). Questa teoria suggerisce che la PD prodromica è protettiva della dipendenza dal fumo e non il contrario.

1.4.3. Consumo di alcool

Poiché i dati epidemiologici hanno suggerito che il fumo e il consumo di caffè possono ridurre il rischio di sviluppare il PD, è stato studiato anche il consumo di alcol. Una recente revisione di tutti gli studi effettuati dal 2000 al 2014 ha esaminato questa relazione e ha trovato risultati contrastanti (Bettiol, 2015). In generale, gli studi prospettici hanno mostrato un aumento del rischio di PD in presenza di un uso moderato di alcol, mentre gli studi caso-controllo hanno mostrato una diminuzione del rischio. La questione della relazione dell'alcol con il PD non è, quindi, ancora pienamente compresa

1.4.4. Farmaci antinfiammatori non steroidei

I dati di laboratorio suggeriscono che la neuroinfiammazione può giocare un ruolo nella morte finale dei neuroni nella PD, e che diminuire questa infiammazione potrebbe essere un fattore neuroprotettivo. Diversi studi hanno cercato di determinare se l'ingestione di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) avrebbe potuto ridurre il rischio di sviluppare il PD. Una recente revisione ha concluso che i FANS nonaspirinici, e la maggior parte dei dati sull'ibuprofene, possono ridurre il rischio di sviluppare il PD (Rees, 2011).

1.4.5. Statine

Le statine hanno dimostrato di avere proprietà antinfiammatorie ed è stata sviluppata l'ipotesi che possano essere potenziali agenti neuroprotettivi. Le statine sono già uno dei farmaci più comunemente prescritti, il che aumenta l'interesse in questi farmaci. Una recente analisi dell'uso di statine e la sua correlazione con i tassi di PD è stata studiata prospetticamente in 2 grandi coorti in corso. L'uso regolare di statine è stato associato con una modesta riduzione del rischio di PD (Gao, 2012).

1.4.6. Bloccanti dei canali del calcio

Il blocco dei canali del calcio può proteggere i neuroni dall'eccitotossicità in colture cellulari e modelli animali di PD. Questi dati hanno portato a un trial di fase II per testare gli effetti neuroprotettivi del calcioantagonista isradipina in pazienti con PD in fase iniziale (Parkinson Study Group, 2013). Nonostante la propensione dei pazienti con PD ad avere una bassa pressione sanguigna, il farmaco è stato tollerato e i risultati hanno portato allo sviluppo di un più ampio trial clinico di fase III, che è in corso.

1.4.7. Iperuricemici

I dati preclinici suggerivano che elevati livelli plasmatici di acido urico fossero protettivi contro la PD. In ampie coorti di pazienti con PD seguiti nel tempo, livelli più alti di urato hanno predetto un decorso più benigno della malattia. Inoltre, i dati raccolti prospetticamente su individui sani correlavano livelli di urato più alti a tassi più bassi di PD. A causa di questi risultati, è stato condotto uno studio di fase II sull'inosina, un precursore dell'urato, in pazienti con PD precoce (The Parkinson Study Group, 2013). I risultati hanno dimostrato che l'aumento dell'acido urico è possibile e sicuro nei pazienti con PD precoce. Anche se non è stato possibile determinare se ci fosse un miglioramento clinico nei pazienti con elevati livelli di urato, i dati preliminari sono stati promettenti e probabilmente porteranno a uno studio di fase III.

1.4.8. Esercizio fisico

Studi recenti hanno dimostrato che l'esercizio fisico può migliorare la funzione motoria nella PD così come alcuni dei sintomi non motori, come la fatica, la cognizione e la depressione. Una recente meta-analisi ha esaminato i risultati degli studi randomizzati controllati RCT sull'esercizio fisico di tutti i tipi, condotti tra il 2013 e il 2015 (Bloem, 2015). Sono stati esaminati 33 studi sull'esercizio fisico e sulle tecniche di terapia fisica di varie modalità, tra cui l'esercizio aerobico, l'allenamento della forza e dell'equilibrio. I benefici sono stati trovati in diversi paradigmi di esercizio. Uno studio in particolare ha evidenziato il fenomeno che esercizi di diversi tipi hanno avuto benefici sul funzionamento nel PD. Shulman e colleghi (2013) hanno condotto uno studio con 3 gruppi: allenamento con tapis roulant ad alta intensità, allenamento su tapis roulant a bassa intensità, ed esercizi di stretching e resistenza. Tutti i gruppi hanno aumentato la velocità dell'andatura; ma è interessante notare che il gruppo di stretching e resistenza ha avuto il miglioramento maggiore.

1.5. Patogenesi

La malattia di Parkinson è caratterizzata dalla morte dei neuroni dopaminergici nella substantia nigra. Il segno distintivo patologico del Parkinson è il corpo di Lewy, un'inclusione neuronale che consiste in gran parte da aggregazioni proteiche di α -sinucleina. Il modello più citato per spiegare la progressione neuropatologica della malattia di Parkinson è l'ipotesi di Braak (2003). Questo modello suggerisce che la malattia di Parkinson inizia (fasi 1 e 2) nel midollo allungato e nel bulbo olfattivo. Questa patologia precoce è associata a sintomi che si verificano prima dell'insorgenza del disturbo del movimento, come il movimento oculare rapido, il disturbo del comportamento nel sonno (in cui gli individui perdono la normale paralisi del sonno dei movimenti oculari rapidi e agiscono fisicamente durante il sonno) e la diminuzione dell'olfatto. Nelle fasi 3 e 4, la patologia progredisce nella substantia nigra (pars compacta) e altre strutture del mesencefalo e del proencefalo. La patologia in queste aree è associata ai classici sintomi motori del Parkinson. La malattia di Parkinson è tipicamente diagnosticata in questo stadio. Nella malattia di Parkinson avanzata, la patologia progredisce alle corteccie cerebrali con insorgenza di deterioramento cognitivo e allucinazioni (Braak, 2003). Le aggregazioni proteiche della malattia di Parkinson sono associate a morte delle cellule produttrici di dopamina. I trattamenti che integrano dopamina sono il pilastro del trattamento della malattia di Parkinson. Tuttavia, altri sistemi di neurotrasmettitori sono anche disfunzionali nella malattia di Parkinson, tra cui serotonina (Pasquini, 2018; Factor, 2017), acetilcolina (Morris, 2019) e sistemi di norepinefrina (Tabella 2) (Schapira, 2017). Questo spiega perché alcuni sintomi del Parkinson sono refrattari ai farmaci a base di dopamina. Alcuni nuovi approcci terapeutici hanno come bersaglio questi sistemi alternativi di neurotrasmettitori.

Tabella 2. Neurotransmitters and pharmacologic agents relating to parkinson disease symptoms (Armstrong et al., 2020).

Symptom or Sign	Neurotransmitters and Drugs Influencing the Neurotransmitter				
	Dopamine	Serotonin	Norepinephrine	Acetylcholine	Other
Motor impairment (eg, bradykinesia, rigidity, tremor, gait disturbance)	Levodopa preparations, dopamine agonists (eg, pramipexole, ropinirole), monoamine oxidase-B inhibitors (eg, rasagiline, selegiline), catechol-O-methyl transferase inhibitors (eg, entacapone)			Anticholinergic agents for tremor (eg, trihexyphenidyl) ^a ; cholinesterase inhibitors for gait (eg, rivastigmine) ^{a,b}	Amantadine ^c
Cognitive impairment	Monoamine oxidase-B inhibitors ^{a,b}			Cholinesterase inhibitors	
Psychosis	Quetiapine, clozapine ^a	Pimavanserin		Cholinesterase inhibitors ^{a,b}	
Depression, anxiety	Dopamine agonists ^a	Selective serotonin reuptake inhibitors, selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors, tricyclic antidepressants	Selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors, tricyclic antidepressants	Tricyclic antidepressants	

^a Indicates US Food and Drug Administration approved for another use but off-label use for the sign or symptom in this row.

^c Amantadine may affect multiple neurotransmitter systems including dopamine and glutamate.

^b Studied for this use with insufficient evidence to date to support routine use.

1.5.1. Neuropatologia

I tratti caratteristici della PD includono la perdita neuronale in aree specifiche della substantia nigra e il diffuso accumulo di proteine intracellulari (α -sinucleina). Sebbene né la perdita di neuroni dopaminergici pigmentati nella substantia nigra (Dickson, 2009; Halliday, 2011) né il deposito di α -sinucleina nei neuroni siano specifici per la PD, queste due importanti neuropatologie sono specifiche per una diagnosi definitiva di PD idiopatica quando applicate insieme. L'atrofia macroscopica del cervello non è una caratteristica del PD, piuttosto la degenerazione neuronale si verifica solo in alcuni tipi di neuroni all'interno di particolari regioni del cervello. Nei primi stadi della malattia la perdita di neuroni dopaminergici pigmentati è limitata alla substantia nigra ventrolaterale con relativo risparmio di altri neuroni dopaminergici del mesencefalo (Damier, 1999) ma diventa più diffusa alla fine dello stadio. La drammatica perdita di questi neuroni dopaminergici anche all'inizio della malattia suggerisce che la degenerazione in questa regione inizia prima della comparsa dei sintomi motori, il che è supportato da una serie di recenti studi clinicopatologici (Iacono, 2015)

L'altra neuropatologia richiesta è la deposizione anomala di α -sinucleina nel citoplasma di alcuni neuroni in diverse regioni del cervello (Braak, 2003). I corpi di Lewy, che sono in gran parte costituiti da α -sinucleina aggregata, sono stati i primi a essere descritti più di un secolo fa. In seguito allo sviluppo di metodi istopatologici raffinati, è stata descritta una gamma più ampia di aggregati di α -sinucleina. La patologia di Lewy si verifica inizialmente nei neuroni colinergici e

monoaminergici del tronco cerebrale e nei neuroni del sistema olfattivo, ma si trovano anche nelle regioni limbiche e neocorticali del cervello con la progressione della malattia. Nei pazienti con patologia di Alzheimer, c'è un modello diverso di patologia α sinucleina che si concentra principalmente nelle regioni cerebrali limbiche (Iacono, 2015).

1.5.2. Neurogenetica

Negli ultimi vent'anni c'è stata un'esplosione della ricerca sulla genetica della PD: ad oggi sono stati identificati 18 loci genici correlati alla PD, con almeno 7 geni che causano la malattia, tra cui l'alfa-sinucleina, la chinasi 2 a ripetizione ricca di leucina (LRRK2), Parkin, la putativa chinasi 1 indotta da PTEN (PINK1), DJ-1, ATPasi tipo 13A2 (ATP3A2), e glucocerebrosidasi. Le mutazioni di questi geni sono state identificate come causa di rare forme familiari di PD. Si stima che la PD monogenica rappresenti circa il 5% di tutti i casi di PD in un modello di eredità autosomica dominante o autosomica recessiva. Le mutazioni LRRK2 sono le più comuni e sono state associate all'1% dei casi di PD sporadica e rappresentano il 4% dei casi di parkinsonismo ereditario. La mutazione del gene LRRK2 (Funayama, 2002) interferisce con l'autofagia ed è stato riportato che rallenta la degradazione dell' α -sinucleina, contribuendo al suo accumulo (Yue, 2013). Le mutazioni LRRK2 generalmente danno origine a un fenotipo di malattia benigna con tremore predominante che assomiglia al PD sporadico (Gasser, 2011), in particolare al parkinsonismo asimmetrico con tremore, ma con un rischio ridotto di deterioramento cognitivo e olfattivo (Thengannat, 2014). Le mutazioni in 4 geni (Parkin, DJ-1, PINK1, e ATP13A2) causano parkinsonismo recessivo a insorgenza precoce (età di insorgenza <40 anni). Le mutazioni di Parkin sono la seconda causa genetica più comune di parkinsonismo L-dopa responsivo e rappresentano da un terzo a metà di tutto il giovane esordio PD, mentre le mutazioni negli altri 3 geni sono più rare (Lees, 2009). Il fenotipo della mutazione di Parkin ha un decorso lento e benigno rispetto al PD sporadico, con una buona risposta ai farmaci dopaminergici e benefici per il sonno (i pazienti vanno meglio al mattino). Le mutazioni ATP13A2 determinano una disfunzione lisosomiale (Dehay, 2012) e causano un parkinsonismo ad esordio giovane (sindrome di Kufor-Rakeb), mentre la sua espressione è regolata nei neuroni dopaminergici sopravvissuti nel PD idiopatico, suggerendone il suo ruolo neuroprotettivo (Ramirez, 2006). Mutazioni della glucocerebrosidasi (GBA), un enzima lisosomiale che metabolizza la glucosilceramide e i cui difetti causano la malattia di Gaucher (GD), costituiscono il più importante fattore di rischio genetico per il PD attualmente conosciuto. Le mutazioni GBA sono altamente prevalenti tra i pazienti con PD, con un odds ratio di 5.43; tra 5 e 25% di PD pazienti sono portatori di mutazioni GBA. Il contributo di GBA alla patogenesi del PD è complesso e ci sono interazioni con diverse vie implicate nella

patogenesi del PD: una relazione reciproca con l'accumulo di α -sinucleina e disfunzione mitocondriale. Il PD legato al GBA è clinicamente indistinguibile dal PD sporadico, anche se i pazienti mostrano generalmente un esordio più precoce, un deterioramento più rapido (a seconda della mutazione GBA) e un maggior rischio di deterioramento cognitivo (Balestrino, 2018). Recentemente, nove varianti rare di LRP10 sono state associate a PD familiare, demenza PD e demenza con LB (DLB) (Quadri, 2018). LRP10 è una proteina che fa la spola tra la rete trans-Golgi, gli endosomi e la membrana. Altri geni implicati in questa rete, tra cui VPS35 e GGA1, sono stati precedentemente collegati a PD. Sono necessarie ulteriori ricerche per chiarire il ruolo patogenetico delle alterazioni in queste vie nel PD e in altri disturbi neurodegenerativi con patologia a corpi di Lewy (Williams, 2017). Il motivo per cui i neuroni dopaminergici della substantia nigra pars compacta (SNpc) sono particolarmente suscettibili alla neurodegenerazione rimane sconosciuto; è stato proposto che la natura autonoma del ritmo dei neuroni dopaminergici della SNpc e l'omeostasi del calcio omeostasi giocano un ruolo importante (Cali, 2011). Recentemente, il ruolo del microbioma nella patogenesi del PD e di altre malattie neurodegenerative ha attratto un crescente interesse. I meccanismi patogenetici includono l'alterazione della sintesi della dopamina e del metabolismo, disregolazione del sistema immunitario e infiammazione, e cambiamenti nella permeabilità della mucosa enterale (Spielman, 2018).

1.5.3. Patogenesi molecolare

Sebbene le forme ereditabili di PD rappresentino solo il 5-10% di tutti i casi, alcuni dei geni mutanti regolano un insieme di vie molecolari che, se perturbate, possono innescare una neuropatologia che assomiglia, o è indistinguibile, dalla PD idiopatica. Grandi studi di associazione genoma-wide (GWAS) suggeriscono che i geni che codificano per proteine coinvolte in queste vie molecolari possono avere un ruolo anche nella PD sporadica (Nalls, 2014). Esempi di queste vie sono: α -sinucleina proteostasi, funzione mitocondriale, stress ossidativo, omeostasi del calcio, trasporto assonale e neuroinfiammazione.

1.5.4. Proteostasi della α -sinucleina

Gli aggregati proteici intraneuronali costituiti in gran parte da α -sinucleina si trovano in tutti i casi di PD. La normale funzione neuronale della proteina α -sinucleina di 140 aminoacidi non è completamente compresa, ma si trova nel citosol, forse anche nei mitocondri e nel nucleo, e probabilmente gioca un ruolo nella dinamica delle vescicole sinaptiche, ma è anche implicata nella funzione mitocondriale, nel traffico intracellulare e come potenziale chaperone (Soldner, 2016;

Wales, 2013; Burre, 2015). Durante un processo patogenetico i monomeri solubili di α -sinucleina formano inizialmente oligomeri, poi si combinano progressivamente per formare piccole protofibrille e infine grandi fibrille amiloidi insolubili (cioè gli "aggregati" che costituiscono la patologia di Lewy) che acquisiscono proprietà neurotossiche (Kim, 2008; Melki, 2015). I fattori scatenanti l'accumulo e l'aggregazione dell' α -sinucleina possono essere molteplici, ad esempio una sovrapproduzione della proteina o la presenza di mutazioni che aumentano la probabilità del suo misfolding e dell'oligomerizzazione, o i disturbi delle vie molecolari incaricate di degradare l' α -sinucleina, sia nel suo stato nativo che dopo il misfolding. Il cervello invecchiato è particolarmente suscettibile, e si può presumere che ciò sia almeno in parte dovuto a un declino progressivo, legato all'età, dei meccanismi di difesa proteolitica. L'esistenza di mutazioni puntiformi in SNCA, il gene che codifica l' α -sinucleina, che causano la PD, così come le famiglie con moltiplicazioni dell'SNCA che sviluppano una condizione simile alla PD, supportano fortemente l'ipotesi che l' α -sinucleina sia un attore chiave nel PD. Allo stesso modo, studi sul genoma hanno rivelato un polimorfismo a singolo nucleotide associato al locus SNCA che altera il rischio per il PD sporadico e che è associato a maggiori livelli di espressione di α -sinucleina (Vekrellis, 2011). Uno studio su neuroni umani derivati da iPSC e sulla corteccia frontale di pazienti con PD supporta l'idea che una variante di rischio di PD in un elemento enhancer distale non codificante di SNCA sia accoppiata a un'aumentata espressione di α -sinucleina (Soldner, 2016).

1.5.5. Degradazione dell' α -sinucleina

L'omeostasi intracellulare dell' α -sinucleina è mantenuta dalle azioni del sistema dell'ubiquitina proteasoma (UPS) e del sistema lisosomiale-autofagia (LAS). L'importanza relativa dell'UPS e del LAS per la proteolisi intracellulare dell' α -sinucleina nei neuroni è dibattuta e il LAS sembra più centrale dell'UPS nella rimozione degli assemblaggi oligomerici (Xilouri, 2013). Ulteriori proteasi, che non fanno parte di UPS e LAS, possono scindere l' α -sinucleina anche nello spazio extracellulare (Xilouri, 2013). Sia l'autofagia mediata da chaperoni (CMA) che la macroautofagia mediano la degradazione dell' α -sinucleina (Xilouri, 2013; Brundin, 2008). La CMA coinvolge chaperoni specifici che indirizzano alcune proteine ai lisosomi, mentre la macroautofagia comporta la formazione di vescicole con doppia membrana, chiamate autofagosomi che sono diretti ai lisosomi perinucleari. L'inibizione di uno dei due sistemi porta a un aumento dei livelli di α -sinucleina e ci sono prove di un cross-talk compensativo tra i sistemi (Xilouri, 2009). È importante notare che l'aumento dell'età, il maggiore fattore di rischio per il PD, è associato a una riduzione delle funzioni LAS e UPS (Kaushik, 2015), che è coerente con le osservazioni di un aumento dei livelli basali di α -sinucleina nei neuroni dopaminergici nigrali durante il normale

invecchiamento (Chu, 2007). La stimolazione farmacologica della macroautofagia riduce i livelli cellulari di α -sinucleina in modelli sperimentali (Sarkar, 2007; Steele, 2013). Nella substantia nigra dei pazienti con PD e nei modelli sperimentali di PD, gli enzimi lisosomiali sono ridotti in particolare nelle cellule che contengono inclusioni di α -sinucleina (Steele, 2013), i marcatori di CMA sono diminuiti (Chu, 2009) e gli autofagosomi si accumulano (Alvarez-Erviti, 2010). Ulteriori osservazioni supportano l'idea che la proteostasi alterata influenzi profondamente l'accumulo neuronale di α -sinucleina. Per esempio, gli oligomeri di α -sinucleina inibiscono l'UPS (Anglade, 1997), l'accumulo di α -sinucleina può inibire la macroautofagia (Emmanouilidou, 2010; Winslow, 2010) e diverse forme di α -sinucleina (wild type, mutante e dopamina-modificata) possono ridurre la funzione CMA (Xilouri, 2009; Tanik, 2013). Collettivamente, queste osservazioni suggeriscono un circolo vizioso che coinvolge l'accumulo di α -sinucleina e il fallimento della proteostasi neuronale.

Diverse mutazioni associate al PD familiare riducono anche la funzione LAS. Una conseguenza dell'espressione della mutazione G2019S nel gene che codifica per LRRK2 è associata a un LAS compromesso e a una maggiore aggregazione di α -sinucleina nei neuroni della dopamina esposti alle fibrille di α -sinucleina (Martinez-Vicente, 2008). Mutazioni eterozigoti nel gene che codifica l'enzima lisosomiale glucocerebrosidasi (GBA) costituiscono il fattore di rischio genetico più comune per il PD (Volpicelli-Daley, 2016) e sono anche accoppiati a ridotta funzione LAS (Sidransky, 2009). Studi sul genoma hanno rivelato due polimorfismi nel locus GBA associati a rischio alterato PD (Nalls, 2014), e l'invecchiamento normale è segnalato per provocare un progressivo declino dell'attività GBA (Rocha, 2015). Recenti evidenze da studi clinici di coorte suggeriscono anche un aumento del rischio di demenza nei soggetti PD portatori di mutazioni GBA che nello stato omozigote sono associate alla neuronopatia della malattia di Gaucher (Cilia, 2016; Liu, 2016). Una ridotta attività di GBA coincide con un aumento dei livelli di α -sinucleina sia in colture cellulari che in modelli animali (Mazzulli, 2011; Sardi, 2013). Le mutazioni nel gene che codifica la proteina vacuolare di smistamento-35 (VPS35), che causano la PD autosomica dominante (Vilarino-Guell, 2011; Zimprich, 2011) sembrano anche influenzare la manipolazione dell' α -sinucleina. VPS35 fa parte del complesso retromero che svolge un ruolo chiave nello smistamento dei lipidi e delle proteine appena sintetizzate o che hanno subito l'endocitosi, e li dirige verso il lisosoma, la superficie cellulare o il Golgi (Seaman, 2014). In particolare, i topi con deficit di VPS35 mostrano un aumento dei livelli di α -sinucleina nei neuroni della dopamina nigrale (Tang, 2015), mentre la sovraespressione di VPS35 riduce l'accumulo di α -sinucleina nei topi transgenici che sovraesprimono α -sinucleina e nei neuroni in coltura esposti alle fibrille di α -

sinucleina (Dhungal, 2015). Sia la carenza di VPS35 che la mutazione D620N in VPS35 che causa il PD sono accoppiate a ridotti livelli cellulari della proteina lisosomiale LAMP256, suggerendo ancora una volta che la perturbazione LAS è fondamentale nella patogenesi del PD. Infine, mutazioni nel gene ATP13A2 (PARK9), che codifica un tipo 5 P-tipo ATPasi che è presente nei lisosomi e autofagosomi (Ramirez, 2006), sono associati con una rara condizione neurologica giovanile-insorgenza (Kufor-Rakeb sindrome) che include caratteristiche parkinsoniane e risponde alla terapia dopaminergica (Ramirez, 2006). Sia la disfunzione di LAS che il traffico vescicolare probabilmente contribuiscono alla neurodegenerazione in persone con mutazioni in ATP13A2 (Dehay, 2012). In particolare, i GWAS hanno rivelato che alcune varianti di ATP13A2 sono associate ad una maggiore incidenza delle mutazioni di LRRK2 e a un maggiore rischio di PD nei portatori di mutazioni GBA, il che supporta l'idea che questi geni agiscano in percorsi molecolari condivisi (Lubbe, 2016).

1.5.6. Propagazione di tipo prionico della patologia α -sinucleina

Un ulteriore meccanismo per lo sviluppo degli aggregati di α -sinucleina è stato recentemente proposto. L'ipotesi prionica per l' α -sinucleina afferma che una volta che gli aggregati di α -sinucleina si sono formati in un neurone possono essere trasportati intra-assonalmente in altre regioni del cervello, essere rilasciati nello spazio extracellulare, essere assorbiti dai neuroni vicini e seminare l'aggregazione di α -sinucleina endogena una volta all'interno del loro nuovo ospite cellulare (Angot, 2010; Brundin, 2010). Studi di coltura cellulare hanno dimostrato che la compromissione della LAS porta a un aumento della secrezione di α -sinucleina nello spazio extracellulare attraverso gli esosomi, e che l'endocitosi è un meccanismo chiave dell'assorbimento di α -sinucleina extracellulare, in parte mediato da una proteina transmembrana chiamata gene di attivazione dei linfociti 3 (Tyson, 2015; Mao, 2016). Così, il misfolding iniziale di α -sinucleina in un piccolo numero di cellule potrebbe portare progressivamente alla diffusione di aggregati di α -sinucleina in più regioni del cervello nel corso di anni o decenni dopo l'insulto iniziale. Questo è coerente con l'idea che la patologia α -sinucleina impegna gradualmente più regioni del cervello come la malattia progredisce, come suggerito da Braak e colleghi (2003). Inoltre, questo modello supporta l'idea che i primi siti di aggregazione di α -sinucleina potrebbero essere nei nervi enterici dell'intestino e nel bulbo olfattivo, dove sono alla base dei sintomi e dei segni associati al PD prodromico (ad esempio, anosmia, costipazione) (Berg, 2015; Mahlknecht, 2015), prima di diffondersi, portando infine alla disfunzione motoria una volta che la substantia nigra è stata coinvolta (George, 2013).

1.5.7. Disfunzione mitocondriale

Diverse linee di evidenza hanno implicato la disfunzione mitocondriale come elemento chiave nella patogenesi del PD (rivisto in dettaglio nei riferimenti (Schapira, 2007; Bose, 2016). Un quadro emergente è quello di un circolo vizioso in cui l'aggregazione di α -sinucleina e la disfunzione mitocondriale si esacerbano a vicenda, il che potrebbe spiegare perché questi cambiamenti cellulari sono osservati insieme nei neuroni degeneranti nella PD. L'attività del complesso mitocondriale 1 è ridotta in cellule di vari tessuti di pazienti con PD (Schapira, 2007; Bose, 2016). È stato supposto che bassi livelli di α -sinucleina siano normalmente presenti nei mitocondri, ma che l'accumulo della proteina all'interno dei mitocondri porti a deficit del complesso 1 e allo stress ossidativo (Devi, 2008). L'attivazione del recettore gamma attivato dal proliferatore del perossisoma (PPAR γ coattivatore-1 (PGC-1 α), si traduce in una ridotta oligomerizzazione e tossicità della α -sinucleina in vitro, mentre la carenza di PGC-1 α , indotta da un knockdown genetico, aumenta la vulnerabilità agli oligomeri di α -sinucleina (Eschbachm 2015). Al contrario, l'esposizione agli oligomeri di α -sinucleina riduce i livelli cellulari di PGC-1 α (Eschbachm 2015). Bassi livelli di α -sinucleina sono normalmente presenti nei mitocondri, ma l'accumulo della proteina nei mitocondri porta ad un deficit del complesso 1 e allo stress ossidativo (Devi, 2008). In modelli animali, l'iniezione di diverse tossine che danneggiano la funzione mitocondriale replica le caratteristiche della neuropatologia del PD (Schapira, 2007; Bose, 2016). Quando il fattore di trascrizione mitocondriale A, che è essenziale per l'espressione del DNA mitocondriale, è selettivamente impoverito nei neuroni dopaminergici dei topi (i cosiddetti topi MitoPark), i neuroni dopaminergici nigrali mostrano una catena respiratoria difettosa e degenerano in età adulta (Ekstrand, 2007). I topi adulti a cui manca un allele di *Engrailed1*, che aumenta la traduzione nucleare delle proteine del complesso mitocondriale NDUFS1 e NDUFS3, replicano diverse caratteristiche importanti della neuropatologia del PD, ad esempio le perturbazioni dell'autofagia, la neuroinfiammazione e la morte progressiva dei neuroni della dopamina nigrale in seguito a degenerazione assonale retrograda (Nordstrom, 2015). È importante notare che la degenerazione assonale, potenzialmente dovuta alla carenza di energia, potrebbe essere un evento neurodegenerativo a monte e precoce nel PD. Studi di imaging del cervello umano hanno dimostrato cambiamenti nello striato in persone anche diversi anni prima della diagnosi di PD (Sossi, 2004; Sossi, 2010), e recenti studi post-mortem suggeriscono che i terminali nigrostriatali sono disfunzionali o sono degenerati diversi anni prima che i corpi cellulari neuronali nella substantia nigra muoiano (Kordower, 2013). Una spiegazione alternativa per la degenerazione assonale è che gli aggregati di α -sinucleina alla fine diventano ostacoli al normale trasporto

assonale (Lamberts, 2015). I recenti progressi nella comprensione delle vie molecolari governate dai geni del PD hanno fornito ulteriore supporto alla nozione che il fallimento mitocondriale è un evento chiave nel processo della malattia. Per esempio, le mutazioni di LRRK2 non sono solo associate a cambiamenti nell'autofagia, ma anche a compromissioni mitocondriali (Bose, 2016). Inoltre, le proteine codificate da parkin e PINK1, geni recessivi del PD, cooperano nella rimozione dei mitocondri danneggiati attraverso la mitofagia (Pickrell, 2015). La degradazione alterata di Miro (una proteina nella membrana mitocondriale esterna che collega l'organello ai motori dei microtubuli) sembra giocare un ruolo nella clearance difettosa dei mitocondri danneggiati. Nei neuroni derivati da iPSC sia di PD ereditaria che sporadica, la degradazione di Miro è ridotta e di conseguenza la mitofagia è inefficiente, il che potrebbe portare a un fallimento energetico (Hsieh, 2016).

1.5.8. Stress ossidativo

L'evidenza che lo stress ossidativo, come conseguenza della disfunzione mitocondriale, aumenti nel tessuto cerebrale del PD è convincente (Dias, 2013), ma è discutibile se si verifichi durante la morte dei neuroni. Le mutazioni in DJ-1, un antiossidante putativo, che causano la PD autosomica recessiva ad esordio precoce (Bonifati, 2003), sono associate ad un aumento dello stress ossidativo cellulare (Di Nottia, 2016; Guzman, 2010). È stato suggerito che i neuroni dopaminergici nigrali siano particolarmente vulnerabili allo stress metabolico e ossidativo per diverse ragioni. In primo luogo, possiedono assoni particolarmente lunghi (fino a 4,5 metri) e non mielinizzati, con un gran numero di sinapsi (stimate a 1-2,4 milioni per neurone dopamina nigrale) che richiedono una grande energia per essere sostenute (Bolam, 2012; Pissadaki, 2013). In secondo luogo, essi (a differenza dei neuroni dopaminergici della vicina area tegmentale ventrale che sono relativamente resistenti nel PD) mostrano un'attività di pacemaking autonoma che coinvolge le oscillazioni del calcio citosolico e l'estrusione di calcio (Surmeier, 2011; Surmeier, 2016). In terzo luogo, livelli elevati di dopamina citosolica e dei suoi metaboliti possono causare uno stress ossidativo tossico (Mosharov, 2009; Lotharius, 2002). Come nota finale, la disfunzione mitocondriale e l'aumento dello stress ossidativo possono portare alla deplezione dei lisosomi (Dehay, 2010) e alla compromissione funzionale dei LAS, dimostrando ulteriormente che diverse vie patogene putative nel PD sono intimamente collegate.

1.5.9. Neuroinfiammazione

Un gran numero di studi post-mortem, di imaging cerebrale e di biomarcatori fluidi hanno mostrato che la neuroinfiammazione è una caratteristica saliente della PD (Moehle, 2015). Anche se forse

non è il fattore scatenante iniziale, la neuroinfiammazione è probabilmente un contributo essenziale alla patogenesi del PD (Ransohoff, 2016; Hirsch, 2009). I neuroni catecolaminergici nel cervello del PD e i neuroni dopaminergici coltivati (quando esposti a microglia attivata o L-dopa) sono stati segnalati per essere particolarmente inclini a esprimere gli antigeni del complesso maggiore di istocompatibilità di classe I (MHC- I), che li espone alla morte mediata da cellule T citotossiche se presentano proteine estranee (Cebrian, 2014).

I GWAS indicano che i geni associati al PD spesso codificano per proteine espresse nelle cellule immunitarie e coinvolte nella regolazione immunitaria, come LRRK2 (coinvolto nell'autofagia delle cellule immunitarie) (Nalls, 2014; Schapansky, 2014; Ma, 2016). Esistono stretti legami tra alcuni geni della PD, aggregati proteici e neuroinfiammazione. Prove da pazienti e modelli sperimentali suggeriscono che l'aggregazione di α -sinucleina induce sia l'immunità innata che quella adattativa nella PD (Ransohoff, 2016; Hirsch, 2009), e la neuroinfiammazione può anche promuovere il misfolding di α -sinucleina (Gao, 2008), suggerendo che i due processi partecipano a un ciclo auto-aggravante. Durante il PD prodromico, l'infiammazione dei tessuti nel sistema olfattivo o nell'intestino è stata suggerita per innescare un livello sufficiente di α -sinucleina misfolding che alcuni aggregati di α -sinucleina alla fine sfuggono ai normali meccanismi di degradazione (Lema Tome, 2013). Infatti, prove recenti da esperimenti in topi α Syn sovraesposti suggeriscono un ruolo del microbiota intestinale nel promuovere l'attivazione microgliale e la patologia α Syn così come i deficit motori (Sampson, 2016).

Sarebbe fuorviante, tuttavia, suggerire che le cellule immunitarie attivate contribuiscono solo all'inizio o al deterioramento della patologia del PD nel cervello. La microglia può fagocitare e degradare gli aggregati extracellulari di α -sinucleina e le immunoterapie che hanno come bersaglio l' α -sinucleina, e che sono attualmente in fase di sviluppo per gli studi clinici, si basano sulla rimozione dell' α -sinucleina legata agli anticorpi da parte delle cellule immunitarie attivate (George, 2015).

1.5.10. Fisiopatologia del circuito motorio nel PD

I gangli della base fanno parte di diversi circuiti paralleli, ma anatomicamente segregati ed hanno funzioni importanti nel controllo delle azioni e del comportamento. Sono stati identificati quattro circuiti con un'organizzazione funzionalmente simile, ma topograficamente distinta, che servono le funzioni limbiche, prefrontali-associative, oculomotorie e motorie, collegando le corrispondenti aree corticali frontali e le sottoregioni del talamo e dei gangli della base (Alexander, 1990; Alexander, 1986). Il parkinsonismo risulta da una diminuzione della trasmissione dopaminergica

nella regione motoria dello striato con effetti opposti sulla via diretta e indiretta con conseguente aumento dell'inibizione GABAergica delle proiezioni talamo-corticali. Questo modello ha fornito un razionale per la rinascita della chirurgia stereotassica nel PD nei primi anni '90, perché l'acinesia non era più considerata un sintomo di "perdita di funzione", ma piuttosto la conseguenza fisiologica di una maggiore attività inibitoria in uscita dei gangli della base. Infatti, la lesione del globus pallidus interno o del nucleo subtalamico si dimostrò efficace nell'alleviare la bradicinesia negli animali e nell'uomo (Bergman, 1990; Laitinen, 1992). Nel frattempo il modello è stato modificato da connessioni aggiuntive come la "via iperdiretta", un collegamento monosinaptico tra le aree corticali motorie e il nucleo subtalamico, che ha cambiato la percezione del nucleo subtalamico da un nucleo relè passivo a una seconda struttura di input dei gangli della base (Nambu, 2000). La via iperdiretta può avere un ruolo nel prevenire risposte premature rinforzando l'attività della via indiretta e quindi la funzione di "rottura" dei gangli della base, permettendo così più tempo per la selezione della risposta più appropriata a livello corticale (Frank, 2007). Inoltre, recenti studi sugli animali hanno suggerito, che l'attivazione antidromica della via iperdiretta può guidare il forte effetto anti-akinetico della stimolazione cerebrale profonda del nucleo subtalamico, sottolineando ulteriormente il significato funzionale di questo secondo input dei gangli della base (Gradinaru, 2009; Li, 2012). Questi cambiamenti, tuttavia, non sono in grado di spiegare completamente la fisiopatologia dei disturbi del movimento iper- o ipocinetici. Prove crescenti suggeriscono che i disturbi del movimento sono caratterizzati da cambiamenti più complessi nell'elaborazione delle informazioni come la sincronizzazione neurale anormale e l'accoppiamento cortico-sottocorticale in bande di frequenza specifiche, come indicato dalla densità di potenza EEG e coerenza spettrale. Lo stato off parkinsoniano è caratterizzato da una maggiore attività della banda beta (~20 Hz) nelle registrazioni dei potenziali di campo locali dei gangli della base, che viene soppressa dai farmaci dopaminergici o dalla stimolazione cerebrale profonda in parallelo al miglioramento clinico della bradicinesia e della rigidità (Kuhn, 2008; Kuhn, 2006). Al contrario, l'ipercinesia - come la discinesia indotta dalla levodopa nel PD - è stata associata a un aumento dell'attività della banda theta nelle stesse strutture (4 - 12 Hz) (Chen, 2006). La stimolazione cerebrale profonda ad alta frequenza sopprime entrambe le attività e può quindi agire come un "filtro" per l'attività anormalmente sincronizzata dei gangli della base, indipendentemente dal disturbo sottostante. Inoltre, i cambiamenti nell'attività cerebellare e l'interazione tra i gangli della base e il cervelletto possono essere importanti per la fisiopatologia del tremore nella PD (Dirkx, 2016) e i disturbi dell'equilibrio e dell'andatura probabilmente coinvolgono un'uscita anomala dei gangli della base attraverso le proiezioni nella regione locomotoria del mesencefalo (nucleo peduncolopontino e cuneiforme) (Windels 2015). Una migliore comprensione di questa rete

motoria espansa può aiutare a definire obiettivi alternativi per la DBS nella PD mirando a specifici profili di sintomi.

1.6. Sintomatologia

La malattia di Parkinson causa sintomi motori e non motori (Tabella 3).

Tabella 3. Motor and non-motor symptoms and signs of Parkinson disease (Armstrong et al., 2020)

Symptom or Sign	Definition or Key Elements
Motor	
Bradykinesia ^a	Slowness and progressively smaller movements (hypokinesia) as an individual repeats a task (eg, tapping index finger and thumb, opening and closing fist) multiple times in a row
Rigidity ^a	Involuntary, velocity-independent resistance to passive movement of a joint (eg, elbow, wrist) by an examiner, with or without a cogwheel phenomenon
Rest tremor ^a	A 4- to 6-Hz tremor in a fully resting limb, which temporarily disappears when the limb is held outstretched and then returns (reemergent tremor) and is not present during movement
Postural instability	Balance impairment affecting a person's ability to change or maintain postures such as walking or standing; typically a late Parkinson disease feature
Nonmotor	
Olfactory loss	Decreased or absent sense of smell (hyposmia)
Sleep dysfunction	Symptoms of rapid eye movement sleep behavior disorder, daytime sleepiness, sleep-maintenance insomnia
Autonomic dysfunction	Constipation, delayed gastric emptying, urinary urgency and frequency, erectile dysfunction, orthostatic hypotension, blood pressure variability
Psychiatric disturbances	Depression, anxiety, apathy, psychosis
Cognitive impairment	Mild cognitive impairment or dementia, often initially affecting attention, executive, and visuospatial functions
Other	Fatigue, hypophonia (softening of the voice), sialorrhea, trouble swallowing

^a Indicates a primary feature.

I sintomi motori consistono in: tremore, rigidità, lentezza e squilibrio. I sintomi non motori colpiscono molti apparati, come gastrointestinale e genitourinario, e sono eterogenei. Gli individui con diagnosi di malattia di Parkinson hanno tipicamente uno sviluppo graduale di sintomi non motori per anni prima che inizino i sintomi motori, ma spesso non menzionano questi sintomi a meno che non siano specificamente interrogati. I sintomi non motori includono movimenti oculari rapidi durante il sonno, disturbo del sonno, perdita dell'olfatto, costipazione, disfunzione urinaria, ipotensione ortostatica, eccessiva sonnolenza diurna e depressione (Berg, 2015). Questi sintomi non sono specifici della malattia di Parkinson, ma quando coesistono, il rischio di una successiva diagnosi di malattia di Parkinson è maggiore (Berg, 2015). Il disturbo comportamentale del sonno da movimenti oculari rapidi, in particolare se identificato dalla polisonnografia, è fortemente associato ad un aumento del rischio di una successiva diagnosi di malattia di Parkinson (Berg, 2015). Più del 90% degli individui con disturbo idiopatico dei movimenti oculari rapidi del comportamento nel sonno alla fine sviluppano una malattia neurodegenerativa legata alla α -sinucleina, di solito la malattia di Parkinson o una condizione correlata (demenza a corpi di Lewy,

atrofia del sistema multiplo) (Galbiati, 2019). Si stima che dal 30% al 50% degli individui con malattia di Parkinson abbiano un disturbo dei movimenti oculari rapidi del comportamento nel sonno (Howell, 2015). I sintomi prodromici sono associati alla patologia precoce del tronco cerebrale della malattia di Parkinson. Una volta che la progressione neuropatologica porta alla perdita di circa la metà delle cellule della substantia nigra caudale, compaiono i segni e i sintomi motori della malattia di Parkinson (Fearnley, 1991), e gli individui presentano preoccupazioni personali o familiari per la graduale comparsa di tremori a riposo, lentezza e/o rigidità generalizzata (non specifica delle articolazioni). Circa il 20% degli individui con malattia di Parkinson non presenta tremori a riposo (Hughes, 1993).

1.6.1. Sintomi motori

Tremore

Il tremore caratteristico del PD è un tremore distale a riposo da 3 a 6 Hz, ma i pazienti con PD possono avere un tremore a riposo, un tremore d'azione, o entrambi, e il carattere del tremore può cambiare nel corso della malattia (Raiput, 1995). La percentuale di pazienti con PD che hanno tremore varia dal 79% al 90% in serie cliniche (Hoehn and Yahr, 1967), e dal 76% al 100% in 3 serie di pazienti con PD autoptica (Louis, 1997). La percentuale di pazienti con tremore a riposo varia dal 69% al 100% nelle 3 serie autoptiche (Louis, 1997). Sebbene il tremore, in particolare quello a riposo, sia più comune nella PD che in altre malattie con caratteristiche parkinsoniane, non è raro negli altri disturbi. Il tremore posturale è ancora più comune e si verifica nel 47% dei pazienti con risultati patologici di PSP (Daniel, 1995). Un tremore posturale o d'azione è presente nel 57% - 79% dei pazienti con degenerazione cortico-basale gangliare (CBGD), e il 29% di un campione avevano un tremore a riposo (Gibb, 1989). In diverse serie di pazienti a cui è stata assegnata la diagnosi istopatologica di demenza a corpi di Lewy (DLB), la percentuale di pazienti con tremore variava dal 25% al 76% (Louis, 1995), e il tremore a riposo è stato specificamente notato nelle cartelle del 27% di 30 pazienti in una serie³⁰ e del 55% di 20 pazienti in un'altra (Louis, 1997).

Rigidità

La frequenza con cui si verifica la rigidità nella PD è stata riportata esplicitamente solo in poche studi, con valori che vanno dall'89% al 99% (Louis, 1997). La rigidità è una caratteristica importante di un'ampia varietà di disturbi del movimento e non è specifica della PD. Infatti, anche i pazienti con tremore essenziale non complicato possono dimostrare rigidità (Salisachs, 1984).

Bradicinesia

A seconda di come viene definita, la bradicinesia è presente nel 77% - 98% dei pazienti con PD (Louis, 1997). La specificità della bradicinesia come segno clinico isolato dipende anche da come viene valutata e dal campione reclutato, ma la bradicinesia non è certamente unica nel PD. Può verificarsi come risultato del normale invecchiamento, della depressione e della malattia di Alzheimer, così come di malattie più chiaramente parkinsoniane come PSP, MSA, CBGD e DLB.

Instabilità posturale

Anche se molti autori considerano l'instabilità posturale una caratteristica cardinale della PD, di solito non si verifica all'inizio della malattia. Infatti, la caratteristica che definisce lo stadio III della malattia sulla scala Hoehn e Yahr (1967) per la classificazione della disabilità nella PD è l'instabilità posturale precoce. Questi ricercatori hanno scoperto che solo il 37% dei pazienti con una durata della malattia di 5 anni o meno ha raggiunto lo stadio III. Al contrario, l'instabilità posturale e le cadute sono i sintomi iniziali più comuni della PSP (Litvan, 1996), e la loro presenza entro un anno dall'inizio della malattia è stata considerata un requisito diagnostico per quella condizione. L'instabilità posturale ha una specificità diagnostica limitata perché può derivare da una varietà di problemi nelle vie afferenti, vie efferenti, elaborazione centrale e anche funzione meccanica muscolo-scheletrica.

Insorgenza asimmetrica

I sintomi iniziano unilateralmente nella maggior parte dei pazienti con PD. Ci sono state poche valutazioni quantitative della responsabilità di questa regola, ma esistono certamente delle eccezioni. Per esempio, lo stadio I della scala di Hoehn e Yahr (1967) è definito solo come coinvolgimento unilaterale, ma Hoehn e Yahr hanno osservato che "non di rado, lo stadio I viene saltato e l'esordio è bilaterale o generalizzato". In due campioni di pazienti con PD patologicamente provata, i sintomi sono iniziati in modo asimmetrico nel 72% - 75% dei pazienti (Hughes, 1993). I sintomi possono iniziare asimmetricamente anche in altri disturbi del movimento. Hughes et al (1993) hanno trovato i sintomi iniziali asimmetrici nel 42% di un gruppo di pazienti con diagnosi neuropatologica diversa dal PD. La percentuale di pazienti con insorgenza asimmetrica dei sintomi variava dal 19% al 50% in 2 pazienti con PSP accertata alla pari (Collins, 1995) e dal 27% al 56% in 2 serie di pazienti con MSA confermato dall'autopsia (Litvan, 1997). Pertanto, l'insorgenza asimmetrica non è né sensibile né specifica come marcatore di PD. Anche così, quando Hughes et al (1993) hanno riesaminato i risultati dell'autopsia di 89 pazienti che soddisfacevano rigorosi criteri clinici per la diagnosi di PD, 65 dei quali avevano cambiamenti

patologici nel PD e 24 dei quali no, l'insorgenza asimmetrica dei sintomi era una delle due sole caratteristiche cliniche che era statisticamente diversa tra i due gruppi.

1.6.2. Sintomi non motori

Oltre alle disfunzioni motorie, si riconosce che i sintomi non motori (NMS) del PD giocano un ruolo estremamente importante nell'influenzare negativamente la qualità della vita dei pazienti con PD e possono precedere la diagnosi formale di decenni (Berg, 2015). L'ipotesi di Braak (2003) suggerisce che i corpi di Lewy, le anomalie cellulari viste nei neuroni del cervello malati di Parkinson, si trovano in più nuclei del tronco cerebrale, causando sintomi non motori prima della loro comparsa nelle aree del cervello che causano sintomi motori. In studi recenti, almeno una NMS è stata riportata da quasi il 100% dei pazienti con PD (Pfeiffer, 2016; Kim, 2013; Krishnan, 2011). Alcuni suggeriscono che le NMS di demenza e allucinazioni sono i più forti predittori di collocamento in casa di cura per i pazienti con PD (Pfeiffer, 2016). Le NMS sono ampiamente classificate come disfunzioni autonome, disturbi del sonno, disturbi dell'umore, anomalie cognitive, dolore e disturbi sensoriali. Tra questi, la disautonomia, i movimenti rapidi oculari (REM), il disturbo del comportamento nel sonno (RBD), la depressione e il disturbo olfattivo hanno dimostrato di essere spesso precedenti all'insorgenza dei sintomi motori della PD.

Disturbi cognitivi

Il declino cognitivo è tra i più comuni e importante NMS. Numerosi studi indicano che in confronto con gruppi di età corrispondenti senza PD, persone con PD mostrano un più rapido declino in diversi domini cognitivi, in particolare esecutivo, attentivo e visuospaziale, ma anche nella memoria. Le disfunzioni cognitive nella PD possono presentarsi in vari gradi (Aarsland, 2003), dalla normale prestazione, al primo lieve declino soggettivo e oggettivo (lieve deterioramento cognitivo (MCI)), alla demenza lieve, moderata e anche grave (Parkinson disease dementia (PDD)). La demenza è una delle complicazioni più temute della PD per i pazienti e i loro caregiver. Le migliori stime derivate dall'analisi della letteratura nel suo complesso suggeriscono che la demenza si verifica nel 25% - 40% dei pazienti con PD (Raiput, 1992). La prevalenza della demenza è superiore al 75% negli individui che sopravvivono 10 anni con la diagnosi di PD (Hely, 2008). Il deterioramento cognitivo lieve colpisce dal 18,9% al 38,2% dei pazienti nelle prime fasi del disturbo (Litvan, 2011). Il deterioramento cognitivo si sviluppa in un sottoinsieme di pazienti con PD, ma le stime della dimensione di questo sottoinsieme variano ampiamente a seconda della definizione di deterioramento, la durata del follow-up, e i criteri di inclusione della serie. Sono stati fatti notevoli sforzi per identificare deficit cognitivi particolari che sono caratteristici della

demenza della PD e di altre malattie sottocorticali, ma i risultati sono stati inconcludenti (Cummings, 1990). I deficit cognitivi compaiono più tardi e sono meno evidenti delle anomalie motorie nella maggior parte dei pazienti con PD, ma ci sono eccezioni (Klatka, 1996).

Disautonomia

La disautonomia associata al PD consiste principalmente in disfunzioni gastrointestinali, anomalie genitourinarie e disfunzioni cardiovascolari con ipotensione ortostatica. La stitichezza è una delle NMS più comuni con una prevalenza che va dal 50% al 70% (Sung, 2013; Martinez-Martin, 2007). È stata persino descritta nel saggio originale di James Parkinson (1817) sulla PD e spesso precede lo sviluppo dei sintomi motori (Martinez-Martin, 2007). La disfunzione genitourinaria dovuta all'iperattività del detrusore è l'anomalia urodinamica più frequente (Sakakibara, 2015), che porta a urgenza urinaria, frequenza, incontinenza e nicturia; si stima che abbia una prevalenza dal 25% al 50% (Winge, 2015). La disfunzione sessuale negli uomini con PD si presenta principalmente come disfunzione erettile, anche se una diminuzione del desiderio sessuale e difficoltà di eccitazione e orgasmo sono state riportate in entrambi i sessi. La disfunzione cardiovascolare è presente in quasi il 60% dei pazienti con PD (Pfeiffer, 2016). L'ipotensione ortostatica può essere una delle più debilitanti NMS cardiovascolari e può manifestarsi in una serie di sintomi, tra cui vertigini, affaticamento, dispnea da sforzo, pensiero annebbiato, o visione offuscata.

Disturbi del sonno

I disturbi del sonno sono estremamente comuni nel PD, e la loro prevalenza può avvicinarsi al 90% (Kurtis, 2013). Questi disturbi includono RBD, sindrome delle gambe senza riposo, movimenti periodici degli occhi, insonnia, ed eccessiva sonnolenza diurna (Stocchi, 1998). La forma più comune di disturbo del sonno è la frammentazione del sonno con frequenti risvegli, che porta ad una eccessiva sonnolenza diurna. Il problema è multifattoriale e aggravato dalla ridotta capacità di girarsi nel letto a causa di rigidità e bradicinesia, nicturia, effetti dei farmaci e movimenti periodici degli arti (Pfeiffer, 2016). Come la stipsi, il RBD spesso precede l'esordio motorio del PD e ha guadagnato l'attenzione come possibile predittore dello sviluppo della malattia. Il RBD è caratterizzato dalla recitazione di un sogno durante il caratteristico sonno REM, quando dovrebbe esserci atonia sulla polisonnografia (McCarter, 2012). La prevalenza del RBD nel PD può essere compresa tra il 25% e il 50%, e alcuni studi suggeriscono che i pazienti con RBD hanno un rischio dall'80% al 90% di sviluppare alla fine la PD (Pfeiffer, 2016). È importante identificare il RBD nei pazienti con PD perché può essere potenzialmente pericoloso per il partner e può essere efficacemente trattato con i farmaci.

Disturbi dell'umore

I disturbi dell'umore, come la depressione, l'ansia e l'apatia, sono comuni nel PD. Come la costipazione e RBD, la depressione può precedere le manifestazioni motorie ed essere un segno precoce prodromico del PD. Una meta analisi ha riportato una prevalenza del disturbo depressivo maggiore nel 17%, depressione minore nel 22%, e distimia nel 13% dei pazienti con PD (Riejinders, 2008). I disturbi d'ansia, tra cui il disturbo d'ansia generalizzato, l'agorafobia, il disturbo di panico, e la fobia sociale, sono presenti negli individui con PD con una prevalenza dal 20% al 40% (Sung, 2013). Una meta-analisi suggerisce che l'apatia può essere presente nel 40% degli individui con PD (Den Brock, 2015). È stato dimostrato che la mancanza di motivazione, caratterizzata da un ridotto comportamento orientato agli obiettivi e da una ridotta espressività emotiva, contribuisce significativamente al carico del caregiver e ha implicazioni negative per il trattamento e la cura a lungo termine.

Dolore e disturbi sensoriali

Diverse anomalie sensoriali sono state descritte in individui affetti da PD. L'alterazione olfattiva è tra le prime NMS del PD ed è presente in circa il 90% dei casi di PD in fase iniziale (Doty, 2012). I problemi della vista si verificano nella popolazione PD sotto forma di ridotta sensibilità al contrasto, discriminazione dei colori, e sindrome dell'occhio secco. Problemi che riguardano le strutture intorno all'occhio si verificano in quelli con PD, come la blefarite seborroica e la malattia delle ghiandole di Meibomio (Nowacka, 2014). Il dolore è un problema frequente nella PD che peggiora nel corso della malattia, e i pazienti che hanno dolore sono più depressi e hanno una peggiore qualità della vita rispetto a quelli che non ne hanno. Il dolore era presente nel 76% dei pazienti con PD in uno studio trasversale (Valkovic, 2015) e può essere categorizzato come muscoloscheletrico, distonico, neuropatico centrale, radicolare, e altro (lombalgia non radicolare, artrite, dolore lombare non radicolare, artrite, viscerale).

Depressione

In serie cliniche in cui le manifestazioni psichiatriche non erano l'argomento principale di interesse, la depressione significativa è stata notata in meno del 5% dei pazienti (Martin, 1973). Al contrario, quando la depressione è stata al centro dell'attenzione, è stata trovata in circa il 40% dei pazienti con PD (Tandberg, 1996), anche se solo circa l'8% dei pazienti soddisfa i criteri per il disturbo affettivo maggiore (Tandberg, 1996).

1.7. Prognosi

La malattia di Parkinson comporta una neurodegenerazione progressiva e un crescente carico di sintomi. Una meta-analisi di studi post mortem ha rilevato che le persone vivono tipicamente da 6,9 a 14,3 anni dopo una diagnosi di malattia di Parkinson, tuttavia vi è una sostanziale eterogeneità (Macleod, 2014). Nello studio multicentrico di Sydney, 36 dei 136 partecipanti (26%) con diagnosi di malattia di Parkinson nel 1984-1987 sono vissuti per almeno 20 anni (Hely, 2008). Le morti correlate alla malattia di Parkinson aumentano con l'età (Parkinson's Disease Collaborators, 2018). Le cause di morte sui certificati di morte degli individui con malattia di Parkinson sono simili alle cause nelle coorti di persone non affette da malattia di Parkinson, con la morte che spesso si verifica prima dello stadio avanzato della malattia (Moscovich, 2017). Quando gli individui muoiono di sintomi legati alla malattia di Parkinson, la polmonite da aspirazione è la causa più comune (Pennington, 2010). La progressione prevista è variabile. In una valutazione clinico-patologica dei 3 sottotipi proposti, il gruppo maligno diffuso aveva un tempo medio (SD) dalla diagnosi alla prima pietra miliare (cadute regolari, dipendenza dalla sedia a rotelle, demenza o sistemazione in una casa di cura) di 3,5 (3,2) anni, rispetto a 8,2 (5,3) anni per la forma intermedia e 14,3 (5,7) anni per la forma a predominanza motoria lieve. La sopravvivenza media (SD) dopo la diagnosi era di 8,1 (5,4) anni per il gruppo maligno diffuso, 13,2 (6,7) anni per il sottotipo intermedio e 20,2 (7,8) anni per la forma lieve a predominanza motoria (De Pablo-Fernandez, 2019). Gli individui con malattia di Parkinson maligna hanno sintomi più precoci e gravi, scarsa risposta ai farmaci e progressione rapida (De Pablo-Fernandez, 2019). Tuttavia, la maggior parte degli individui con malattia di Parkinson ha una risposta moderata o buona ai farmaci dopaminergici (De Pablo-Fernandez, 2019) ma sperimenta un aumento dei sintomi della malattia di Parkinson quando una dose di farmaco si esaurisce (periodi "off") e discinesie nel tempo. I periodi off migliorano con la successiva dose di farmaco e possono verificarsi entro 2 anni dall'inizio della levodopa, ma la loro prevalenza aumenta nel tempo (Chou, 2018). I periodi off sono associati alla disabilità funzionale e possono includere sintomi motori e non motori (Chou, 2018). Si stima che il 40% degli individui con malattia di Parkinson sperimentano discinesie dopo 4 a 6 anni di trattamento con levodopa, tipicamente in periodi di alte concentrazioni di levodopa (Figura 5) (Ahlskog, 2001).

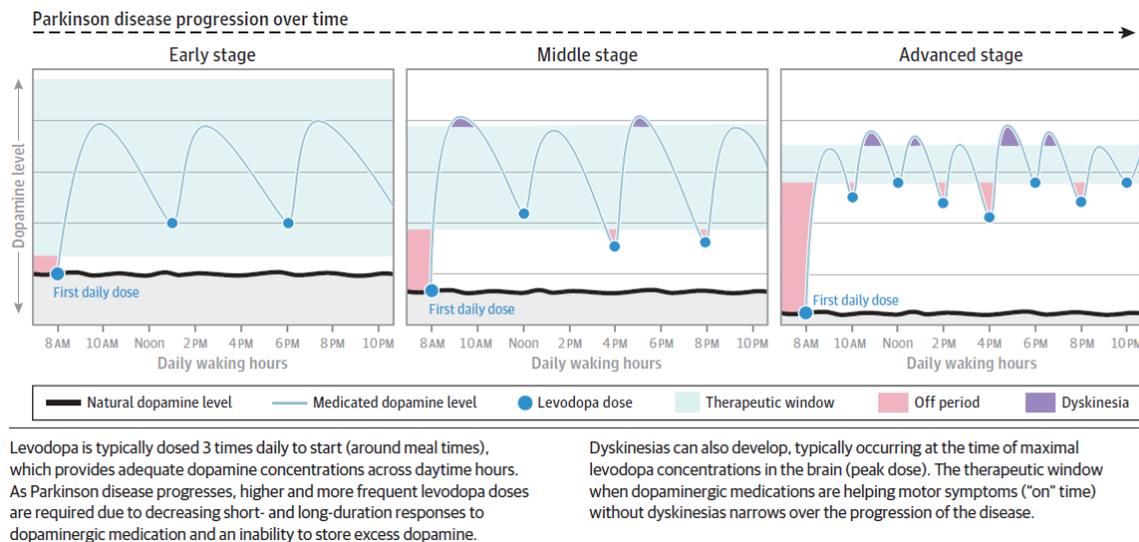


Figura 5. L'interazione nel tempo tra il dosaggio dei farmaci e le discinesie (Ahlskog, 2001).

L'insorgenza della discinesia è associata a una maggiore durata della malattia di Parkinson e a dosi di levodopa piuttosto che alla durata dell'assunzione di levodopa da parte del paziente. Levodopa (Cilia, 2014; Espay, 2018). Sebbene la discinesia sia grave solo nel 3% degli individui con malattia di Parkinson trattati con levodopa (11% degli individui con discinesia), la presenza di discinesia induce a cambiamenti di farmaci in più del 60% degli individui (Turcano, 2018). Alcuni sintomi non motori (iposmia, movimenti oculari rapidi disturbo del comportamento nel sonno, depressione, costipazione) iniziano nella malattia di Parkinson prodromica, ma il peso dei sintomi non motori aumenta con il progredire della malattia di Parkinson (Schapira, 2017). I sintomi sensoriali comprendono l'iposmia (che si verifica in >90% degli individui con Parkinson), disturbi visivi (22%-78%) e disfunzioni somatosensoriali e dolore (30%-85%). somatosensoriali e dolore (30%-85%) (Schapira, 2017). I sintomi autonomici comprendono costipazione, ipotensione ortostatica e disfunzione urinaria (per esempio, nicturia, urgenza, frequenza), che aumentano di frequenza con la progressione della malattia (Schapira, 2017). I sintomi neuropsichiatrici includono ansia (60%), apatia (60%) e depressione (35%) (Schapira, 2017). La psicosi si verifica in circa il 40% degli individui con la malattia di Parkinson, di solito nelle fasi successive. Un lieve deterioramento cognitivo può essere presente alla diagnosi della malattia di Parkinson o svilupparsi nel tempo. La probabilità cumulativa di demenza nel Parkinson è del 46% a 10 anni (Williams-Gray, 2013); tra i pazienti con malattia di Parkinson con una sopravvivenza di 20 anni, l'83% ha la demenza (Hely, 2008). La demenza della malattia di Parkinson è una forma di demenza causata dai corpi di Lewy. La malattia di Parkinson avanzata è caratterizzata da discinesie, deterioramento cognitivo, apatia, allucinazioni, eccessiva sonnolenza diurna, disfunzione autonoma, disfagia da moderata a grave, disartria da moderata a grave, disturbi posturali e

dell'equilibrio, blocco dell'andatura (brevi episodi improvvisi in cui una persona non è in grado di muovere i piedi in avanti nonostante il tentativo di camminare), cadute ricorrenti e disabilità che richiedono aiuto per le attività della vita quotidiana (ADL) (Luquin, 2017). I sintomi avanzati generalmente hanno poco o nessun beneficio dalle terapie per la malattia di Parkinson perché i cambiamenti che causano la disfunzione sono al di fuori delle vie dopaminergiche (Luquin, 2017).

CAPITOLO 2

2. Attività fisica e Parkinson

2.1. Attività fisica e malattie neurodegenerative

L'invecchiamento e il declino cognitivo sono due delle principali cause che portano all'insorgenza della malattia neurodegenerativa e sono identificati attraverso una progressiva evoluzione dei sintomi cerebrali e motori. L'invecchiamento si verifica a tassi diversi da un soggetto all'altro. Pertanto, è difficile stabilire un modello generalizzato (Lopez-Otin, 2013). L'invecchiamento dipende anche dai danni legati alla coesistenza di diverse malattie o stili di vita dovuti all'invecchiamento fisiologico (Dziechciaz, 2014). L'invecchiamento fisiologico non può essere definito o misurato, poiché può essere influenzato da diversi fattori genetici. Tuttavia, i fattori di rischio come il fumo, il consumo eccessivo di alcol e gli stili di vita malsani possono aumentare l'insorgenza del declino cognitivo (Wahl, 2019). L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce l'invecchiamento o la senescenza come un periodo della vita in cui la perdita delle funzioni mentali e/o fisiche diventa più manifesta e ha stabilito l'età di riferimento a 65 anni (Garre-Olmo, 2018). La prevalenza e la stima dell'incidenza del declino cognitivo variano tra gli studi in relazione ai criteri diagnostici utilizzati per definire il declino cognitivo (Rodriguez, 2017), la popolazione campione e le procedure diagnostiche. L'anziano soffre tipicamente di molteplici malattie concomitanti che lo espongono a un rischio di perdita di autonomia (dimensioni e composizione corporea, funzioni cardiovascolari, respiratorie e cerebrali). È stato dimostrato che tutte le capacità del nostro corpo diminuiscono con l'invecchiamento in modi diversi (Wyss-Coray, 2016). L'attività fisica e l'esercizio fisico possono migliorare la mobilità, l'autonomia e le capacità funzionali. Inoltre, le funzioni cognitive hanno effetti positivi sulla qualità della vita e sul benessere (Forbes, 2015; Zanetti, 1997). L'attività fisica migliora la salute e riduce il rischio di incidenza di malattie coronariche, ictus, alcuni tipi di cancro, diabete di tipo 2, obesità, ipertensione, osteoporosi, cadute e mortalità (Badenhop, 1983). L'esercizio fisico può essere efficace nel migliorare la cognizione e la salute psicologica negli adulti oltre i 65 anni e negli adulti sedentari con le malattie sopra menzionate (Piercy, 2018; Saint-Maurice, 2020). Una revisione (Kramer, 2006) ha evidenziato gli effetti benefici dell'esercizio sulla cognizione e la salute del cervello negli anziani, suggerendo una possibile correlazione tra il miglioramento dell'attività cardiorespiratoria e le funzioni cognitive. Secondo gli United States Centers for Disease Control and Prevention (Haskell, 2007), 150 min/settimana di esercizio aerobico di moderata intensità sono sufficienti per ridurre la probabilità di acquisire i fattori di rischio vascolare di cui sopra. È stato

dimostrato che nuovi neuroni possono essere generati nel cervello adulto attraverso processi noti come neurogenesi, che si verifica soprattutto nell'ippocampo, riducendo gli effetti della neurodegenerazione (Cotman, 2002). È stata dimostrata una correlazione positiva tra la neurogenesi e l'esercizio fisico che indica un aumento delle dimensioni dell'ippocampo negli adulti (Erickson, 2011). È stato dimostrato che l'attività fisica in soggetti con MCI e demenza può portare a miglioramenti fisici e cerebrali (Dougherty, 2019; Hayes, 2015). Un recente studio sulla plasticità dell'ippocampo ha valutato i guadagni cognitivi a lungo termine dopo la prescrizione di esercizi di resistenza in pazienti affetti da MCI (Broadhouse, 2020). Gli autori hanno dimostrato per la prima volta che sei mesi di esercizio di resistenza ad alta intensità non solo promuovono la cognizione in persone affette da MCI, ma proteggono anche i sottocampi dell'ippocampo vulnerabili alla degenerazione per almeno 12 mesi dopo la somministrazione del protocollo di esercizio. È stato dimostrato che l'allenamento della resistenza nei soggetti anziani migliora la forza muscolare, l'equilibrio e l'andatura dopo 8 settimane di esercizio moderato a lungo termine e riduce l'incidenza delle cadute nei pazienti anziani fragili con demenza (Cadore, 2014). Pertanto, la migliore strategia per modificare la morfologia e le prestazioni del sistema muscolare è l'esercizio fisico (Bouaziz, 2017). La letteratura riporta prove sull'influenza di diversi aspetti dello stile di vita sul declino cognitivo e sul rischio di demenza (Fratiglioni, 2004). La demenza è una sfida fondamentale per la futura società moderna e la ricerca futura dovrebbe stabilire quanto duraturi siano i benefici di una specifica attività fisica e se siano adeguati a ritardare il declino cognitivo. I nostri risultati hanno mostrato chiaramente che l'attività fisica come esercizi aerobici, di forza o di destrezza sono molto efficaci nel migliorare le funzioni psicomotorie e nel ritardare il corso delle malattie neurodegenerative nell'uomo.

2.2. Benefici dell'attività fisica sul Parkinson

Negli ultimi vent'anni, i risultati di studi prospettici di coorte hanno suggerito che lo stile di vita probabilmente modifica il rischio di sviluppare il PD (Garcia-Ruiz, 2017). Uno di questi fattori, l'attività fisica, è da tempo noto per ridurre il rischio di un'ampia gamma di malattie e condizioni, tra cui le malattie cardiovascolari, ictus e diabete (Pandey, 2015). Recentemente, un numero crescente di prove ha suggerito che una maggiore attività fisica può anche ridurre il rischio di PD (LaHue, 2016). Livelli più alti di esercizio fisico nella mezza età, incluso l'allenamento di forza, aerobico e di equilibrio, sono associati a un minor rischio di PD (Xu, 2010); inoltre, i pazienti PD che rimangono fisicamente attivi hanno una migliore qualità di vita correlata alla salute (Rafferty, 2017) e tassi più bassi di complicazioni gravi come cadute e fratture (Canning, 2015). Se l'attività fisica migliora i risultati nella PD, allora l'inattività probabilmente contribuisce alla disabilità e

rappresenta un'opportunità di intervento. Per queste ragioni, la valutazione dell'attività fisica è una componente delle linee guida dell'American Academy of Neurology per i pazienti con PD (Factor, 2016). Per tutti gli adulti, l'American Heart Association (AHA) raccomanda 150 minuti di attività fisica moderata o 75 minuti di attività fisica vigorosa alla settimana, insieme a 2 giorni alla settimana di allenamento della forza (Nelson, 2007). Nonostante il crescente riconoscimento dell'importanza dell'attività fisica nella gestione della malattia, poco si sa sulle abitudini di attività prevalenti nella PD precoce. Nel PD moderato, l'attività è bassa, e il comportamento quasi sedentario è associato al peggioramento della disabilità (Ellis, 2013). C'è un crescente interesse per i livelli di attività nelle fasi iniziali della malattia, dove gli interventi possono essere i più raggiungibili e fornire il più lungo beneficio potenziale. La prova che l'attività fisica può conferire una protezione biologica è venuta inizialmente da studi in modelli neurotossici indotti da roditori che l'esercizio riduceva la neurodegenerazione selettiva dei neuroni dopaminergici e attenuava le anomalie di movimento ((Tillerson, 2003; Petzinger, 2007). L'esercizio fisico ha anche dimostrato in modelli di roditori di avere altri effetti benefici tra cui l'aumento della secrezione di fattori neurotrofici nello striato e un maggiore rilascio di dopamina vescicolare (Hill, 1965). Nell'uomo, l'esercizio fisico promuove anche l'espressione dei fattori di crescita neurale che potrebbero contribuire alla neuroplasticità e alla sopravvivenza dei neuroni dopaminergici. Fang e colleghi (2018) hanno riportato una meta-analisi di studi prospettici per determinare se ci sono prove di un'associazione quantitativa dose-risposta tra attività fisica e rischio di malattia di Parkinson. L'analisi ha incluso 8 studi prospettici con un totale di più di 500 000 adulti seguiti per una media di 12 anni, con più di 2100 casi di PD. Questa meta-analisi ha fornito prove convincenti che l'attività fisica, in particolare l'attività fisica da moderata a vigorosa, era associata a un rischio significativamente ridotto di sviluppare la PD. L'interpretabilità di questa meta-analisi è meno che semplice perché ogni studio ha valutato diversi domini di attività fisica e ha usato diversi cutoff per classificare i livelli di attività fisica in alta o bassa; tuttavia, un punto di forza dello studio di Fang è che hanno anche condotto una meta-analisi quantitativa usando una metrica comune più potente di attività fisica che rende i risultati più comprensibili. Hanno quantificato l'attività fisica per 6 degli 8 studi che avevano informazioni dettagliate sulla frequenza di impegno in categorie di attività fisica secondo le loro richieste di spesa energetica (equivalente metabolico dei compiti [METs]). Nelle analisi che includevano sia uomini che donne, ogni aumento di 10 MET-ore/settimana di attività fisica totale diminuiva il rischio di PD del 9%. Per gli uomini, ogni aumento di 10 ore MET/settimana di attività fisica da moderata a vigorosa ha diminuito il rischio di PD del 17%. Müller e colleghi (2018) hanno riportato i risultati di uno studio di coorte di 7347 veterani maschi (il Veterans Exercise Testing Study) in cui la forma fisica è stata misurata

oggettivamente tramite test di esercizio massimale. La capacità di esercizio è stata espressa come MET stimati dalla velocità di picco sul treadmill. È stata osservata una forte associazione inversa: gli uomini che avevano un alto livello (>12 METs), contro un basso livello (<8 METs), di fitness sul test da sforzo avevano una riduzione del 76% dell'incidenza di PD. Questo studio evidenzia che la forma fisica misurata oggettivamente negli uomini è inversamente associata al PD in modo dose-risposta. Nella meta-analisi di Fang, nessuna associazione dose-risposta con livelli di attività fisica da moderati a vigorosi in MET è stata osservata per le donne; tuttavia, sarebbe prematuro concludere che l'attività fisica da moderata a vigorosa non è un fattore protettivo per le donne perché solo 4 degli 8 studi includevano donne e tutti gli studi, tranne 1, avevano meno di 150 donne con PD. Di conseguenza, la meta-analisi non aveva la forza necessaria per osservare un'associazione dose-risposta per donne. Xu e colleghi (2010) hanno osservato una significativa relazione dose-risposta tra il numero di ore di attività fisica da moderata a vigorosa per settimana e un minor rischio di PD in 3 delle 4 categorie di età esaminate. L'effetto positivo dell'esercizio fisico sul cervello umano sano è stato ampiamente studiato, ma le prove che dimostrano i benefici dell'attività fisica specificamente nei pazienti con PD sono limitate. La partecipazione all'esercizio, così come le normali attività fisiche quotidiane, si traduce in una migliore forma fisica negli individui sani e in quelli con PD. Gli effetti benefici dell'attività fisica sulle funzioni cerebrali nelle persone sane funzionano presumibilmente attraverso la neuroplasticità adattiva - la capacità del cervello di adattarsi attraverso la riorganizzazione dinamica dei neuroni (Hillman, 2008). Studi su roditori anziani sani hanno dimostrato che l'attività aerobica regolare innesca cambiamenti legati alla plasticità nel sistema nervoso centrale, tra cui la sinaptogenesi, una migliore utilizzazione del glucosio, l'angiogenesi e la neurogenesi (Hirsch, 2009). Negli adulti anziani privi di deterioramento cognitivo, l'esercizio aerobico promuove la salute del cervello riducendo l'infiammazione, sopprimendo lo stress ossidativo e stabilizzando l'omeostasi del calcio (Cotman, 2007). Inoltre, il rilascio di neurotrofine endogene (come il fattore neurotrofico derivato dal cervello, il fattore neurotrofico derivato dalle cellule gliali, il fattore di crescita dei nervi e la galanina) durante l'esercizio aerobico regolare è associato alla plasticità sinaptica e al miglioramento delle prestazioni cognitive, dell'apprendimento e della memoria (Colcombe, 2003; Dishman, 2006). Diversi studi di imaging hanno confermato i benefici effetti cerebrali dell'esercizio negli uomini. Per esempio, il fitness aerobico ha aumentato il volume della materia grigia e bianca nelle persone sedentarie (Colcombe, 2006). Inoltre, l'aumento dell'attività fisica (ottenuto tramite la terapia cognitivo-comportamentale) ha prodotto un aumento del volume della materia grigia nei pazienti con sindrome da fatica cronica (de Lange, 2008). Attualmente, non sono disponibili dati sul fatto che l'esercizio possa indurre alterazioni strutturali o funzionali del cervello

nei pazienti con malattia di Parkinson, e a quale livello potrebbero verificarsi potenziali cambiamenti neuroplastici. La neuroplasticità adattativa può verificarsi spontaneamente nei pazienti con malattia di Parkinson, sia a livello dei gangli della base che della corteccia (Buhmann, 2005), e tali processi compensativi possono anche iniziare nella fase preclinica (van Nuenen, 2009).

Diversi studi hanno indagato l'associazione tra l'esercizio fisico e la farmacocinetica della levodopa (Goetz, 1993; Lopane, 2010; Reuter, 2000), uno dei farmaci più comunemente usati per trattare i sintomi della PD. La levodopa viene trasportata al cervello e convertita in dopamina, che migliora il deficit di dopamina che si verifica nei pazienti con PD. Sebbene la maggior parte degli studi non abbia trovato alcun effetto dell'esercizio fisico sull'efficacia della levodopa (Goetz, 1993; Reuter, 2000), un rapporto ha rivelato una tendenza verso un migliore assorbimento di questo farmaco durante l'attività fisica (Reuter, 2000). In teoria, l'esercizio potrebbe stimolare l'assorbimento della levodopa a causa del passaggio gastrico accelerato o dell'aumento del flusso sanguigno mesenterico (Reuter, 2000). In alternativa, la levodopa potrebbe attraversare la barriera emato-encefalica in modo più efficiente, a causa dell'aumento della pressione sanguigna e della frequenza cardiaca durante l'esercizio (Muhlack, 2007). Tuttavia, questi studi hanno valutato solo un singolo, breve periodo di esercizio (massimo 2 ore). Chiaramente, sono necessari ulteriori studi, in particolare su interventi di esercizio prolungati, per valutare l'effetto dell'esercizio sulla risposta alla terapia con levodopa nei soggetti con PD.

L'esercizio fisico potrebbe potenzialmente influenzare la produzione endogena e il rilascio di dopamina nei pazienti con PD, portando a una maggiore neurotrasmissione dopaminergica (Ouchi, 2001). Questo meccanismo è in linea con gli studi comportamentali che hanno riportato un effetto positivo dell'esercizio di resistenza sui movimenti semplici e più complessi nei pazienti con PD, entrambi eseguiti più velocemente dopo l'esercizio (Muller, 2010). Sebbene non siano stati eseguiti studi di neuroimaging concomitanti, gli autori hanno ipotizzato che questo miglioramento delle prestazioni possa essere attribuito all'aumento della sintesi e del rilascio di dopamina e di altre catecolamine nella corteccia pre-frontale, nel nucleo accumbens e nei gangli della base (Stephenson, 2009). Tuttavia, alcuni ricercatori hanno espresso la preoccupazione che, quando si fa esercizio, la risposta motoria dei pazienti con PD possa essere spinta verso valori normali e il sistema motorio possa utilizzare più velocemente la levodopa disponibile, portando a una maggiore (o anticipata) carenza di levodopa nelle ore seguenti l'esercizio. Questa ipotesi deve essere studiata in dettaglio.

2.2.2. Effetti sui sintomi motori

Miglioramento delle prestazioni motorie

Gli individui con PD invariabilmente sperimentano un declino funzionale in una serie di domini motori, tra cui la postura, l'equilibrio, l'andatura e i trasferimenti (come spostarsi tra un letto e una sedia). Diversi studi, tra cui revisioni sistematiche e una meta-analisi, hanno valutato gli effetti dell'esercizio su questi deficit funzionali (Mehrholz, 2010). Le conclusioni generali di questi studi sono state che l'esercizio può migliorare la funzione fisica, la qualità della vita legata alla salute, la forza delle gambe, l'equilibrio, la postura, l'andatura e la condizione fisica. Un ulteriore studio (Lauzè, 2016) ha confermato i risultati di Mehrholz e colleghi (2010), evidenziando che i risultati maggiori dell'attività fisica sono stati maggiori per la forza, la resistenza o la velocità degli arti inferiori e superiori e per le funzioni metaboliche. Per le capacità funzionali fisiche, le sottocategorie attività della vita quotidiana e andatura, mobilità, postura ed equilibrio hanno presentato risultati positivi maggiori, fatta eccezione per la mobilità generale. I dati che dimostrano che l'esercizio migliora le prestazioni motorie funzionali nei pazienti con PD sembrano solidi; tuttavia, rimane la questione di quale sia il protocollo di esercizio più adatto ai singoli pazienti.

Diminuzione della fatica

La fatica è sperimentata dal 30-50% dei pazienti con PD (Alvers, 2004); uno studio ha riportato che il 44,2% di 233 pazienti con PD ha riportato fatica, rispetto al 18% di 100 controlli di pari età (Karlsen, 1999). Studi longitudinali nella popolazione generale hanno mostrato che la quantità di attività fisica intrapresa era inversamente correlata con la presenza di fatica, questo modello è stato anche evidente nei pazienti con PD (Elbers, 2009). I risultati ottenuti da studi in pazienti con sindrome da fatica cronica hanno mostrato che il training cognitivo comportamentale ha effettivamente ridotto la fatica; tuttavia, i cambiamenti nell'attività fisica non hanno ridotto i livelli di fatica (Wiborg, 2010). Una revisione di nove studi randomizzati controllati ha trovato prove incoraggianti che i pazienti con sindrome da fatica cronica traggono beneficio dall'attività fisica, ma ha anche concluso che sono necessari più studi (Edmonds, 2004). Se questi risultati possono essere estrapolati ai pazienti con PD, l'allenamento nei pazienti con PD potrebbe essere utile per evitare o ridurre la fatica in questa popolazione, anche se non sono stati ottenuti dati da studi clinici per sostenere questa ipotesi. L'altro lato della medaglia è che l'esercizio può paradossalmente aumentare la fatica, quindi gli studi futuri dovrebbero adattare il livello di esercizio alla capacità individuale di ogni paziente.

2.2.3. Effetti sui sintomi non motori

Miglioramento della funzione cognitiva

Il deterioramento cognitivo è comune negli individui nelle fasi avanzate della PD (fino all'80% dei pazienti alla fine svilupperà la demenza) (Aarsland, 2003), e i risultati degli ultimi 5-6 anni suggeriscono che il declino cognitivo in realtà inizia presto nel corso della malattia (Muslimovic, 2005). Solo due piccoli studi hanno indagato i benefici di un programma di esercizio aerobico sulla disfunzione cognitiva nei pazienti con PD (Tanaka, 2009; Cruise, 2010). Uno di questi studi ha analizzato gli effetti di un programma di esercizio fisico multimodale in 20 pazienti con PD. I partecipanti sono stati assegnati a un gruppo di intervento (che ha ricevuto un allenamento fisico generale per 6 mesi) o a un gruppo di controllo. I risultati hanno mostrato un effetto benefico dell'allenamento sulla funzione esecutiva (Tanaka, 2009). L'altro studio ha valutato i benefici dell'esercizio fisico in 28 pazienti con PD, assegnati a un programma di allenamento due volte a settimana per 12 settimane, o a un gruppo di controllo. I ricercatori hanno concluso che l'esercizio ha avuto benefici selettivi sul funzionamento cognitivo migliorando la funzione esecutiva basata sul lobo frontale (Cruise, 2010). Ulteriori evidenze da studi su individui anziani e pazienti con malattia di Alzheimer suggeriscono che l'esercizio può posticipare il deterioramento cognitivo (Lautenschlager, 2008) e ritardare l'insorgenza della demenza (Larson, 2006). La componente aerobica dell'esercizio, in particolare, guida questi effetti clinici (Angevaren, 2008).

Prevenzione della depressione

La relazione tra attività fisica e salute mentale è stata ampiamente studiata in popolazioni senza PD. Una revisione sistematica di 11 studi randomizzati controllati ha concluso che l'esercizio fisico è un trattamento efficace per la depressione in individui sani (Blake, 2009), anche se i meccanismi sottostanti rimangono poco conosciuti. La depressione è un comune sintomo neuropsichiatrico associato al PD. La prevalenza della depressione dipende dall'età del paziente e dalla gravità dei suoi sintomi motori, aumentando dal 15,6% negli stadi I-II di Hoehn e Yahr, al 47,9% negli stadi IV-V (Riedel, 2010). Diversi studi hanno anche esaminato l'effetto di un intervento di attività fisica sulla depressione nei pazienti con PD. Uno studio ha riportato un miglioramento statisticamente significativo della depressione nel gruppo che aveva ricevuto l'intervento, rispetto a un gruppo senza intervento o a un gruppo con massaggio (Stallibrass, 2002), mentre altri studi non hanno riportato un chiaro miglioramento della depressione con l'esercizio fisico (Schmitz-Hubsch, 2006; Goodwin, 2008).

Miglioramento del sonno

La disfunzione del sonno si verifica in 2/3 dei pazienti con PD, tra i quali il problema più comune è il frequente risveglio notturno (Mehta, 2008). In un piccolo studio non controllato su 20 pazienti con PD, qualche indicazione di miglioramento del sonno è stato visto in coloro che hanno partecipato a 36 sessioni di gruppo di esercizi aerobici e di rafforzamento muscolare (Rodrigues, 2006). Nella popolazione generale, gli anziani sedentari con disfunzioni del sonno da moderate a gravi hanno mostrato miglioramenti (valutati dal Pittsburgh Sleep Quality Index) nella latenza di insorgenza del sonno e nella durata del sonno dopo un esercizio di moderata intensità (King, 1997). Sapporre che l'esercizio possa anche migliorare i disturbi legati al sonno nei pazienti con PD sembra ragionevole, tuttavia, questa area ha chiaramente bisogno di essere studiata più in dettaglio.

Diminuzione della stitichezza

La stitichezza è il sintomo gastrointestinale più comune negli individui con PD, ed è riportato dal 50-80% dei pazienti (Barichella, 2009). Sebbene le cause della stitichezza nei pazienti con PD siano multifattoriali, questo sintomo è in parte attribuibile a una mancanza di esercizio fisico (Natale, 2008). Nessuno studio ha ancora valutato l'influenza dell'esercizio o di una maggiore attività fisica sulla stipsi nei pazienti con PD; tuttavia, potremmo ragionevolmente aspettarci che i pazienti con PD sperimentino benefici simili a quelli visti negli individui sani, nei quali studi trasversali hanno dimostrato una relazione inversa tra attività fisica e rischio di stipsi (Peters, 2001). I meccanismi alla base dell'effetto positivo dell'esercizio fisico sulla stitichezza non sono chiari, ma potrebbero includere una maggiore motilità del colon, una diminuzione del flusso sanguigno all'intestino, la stimolazione biomeccanica dell'intestino durante i movimenti di rimbalzo (come la corsa) o la compressione del colon da parte della muscolatura addominale, e l'aumento dell'assunzione di fibre come risultato dell'aumento dispendio energetico (Peters, 2001).

2.3. Effetti di diverse tipologie di allenamento

Una revisione sistematica che valuta l'efficacia dell'esercizio aerobico in pazienti con PD ha suggerito che questo migliora significativamente l'azione motoria, l'equilibrio e l'andatura, compresa la velocità dell'andatura, la lunghezza del passo e la capacità di cammino (Shu, 2014; Tambosco, 2014). Uno studio di David e colleghi (2015) ha suggerito che l'esercizio di resistenza può beneficiare la cognizione in pazienti con PD. La revisione di Mehrholz et al. (2010) ha concluso che l'allenamento su tapis roulant è in grado di migliorare l'andatura, l'ipocinesia e ha mostrato una maggiore sicurezza nel cammino. Anche la revisione sistematica di Herman e

colleghi (2009) ha suggerito che l'allenamento su tapis roulant dovrebbe avere un ruolo importante nel migliorare l'andatura e la mobilità nella gestione dei pazienti con PD. Uc e colleghi (2014) hanno riportato un miglioramento nel test di inibizione (Stroop colour and word test) nei pazienti PD che hanno partecipato a un programma di esercizio aerobico di 6 mesi. Mak e Wong-Yu (2019) hanno dimostrato che sei mesi di allenamento nordic walking inducono miglioramenti della velocità di deambulazione, aumentano la lunghezza del passo e diminuiscono la variabilità dell'andatura, riducendo pertanto anche il rischio di caduta.

Rispetto alla PA di routine, il ballo potrebbe migliorare l'aderenza a lungo termine, la conformità e il divertimento nei pazienti con PD (Auguiar, 2016). Stanno emergendo prove che il ballo può essere una forma benefica di PA per le persone con PD da lieve a moderata (Auguiar, 2016; Shanahan, 2015). Auguiar e colleghi (2016) hanno mostrato che la danza terapeutica potrebbe essere utile per migliorare la mobilità e l'equilibrio nelle persone con PD. Inoltre, Dhimi e colleghi (2014) hanno ipotizzato che la musica ritmica usata nella danza potrebbe attivare i neuroni che servono al controllo motorio e aumentare il flusso di sangue in regioni come l'ippocampo e le cortecce frontale, temporale e parietale. Questo potrebbe facilitare la neuroplasticità e a sua volta migliorare il movimento, l'equilibrio e la cognizione (Dhimi, 2014)

Una meta-analisi sull'efficacia del Tai Chi che questo può migliorare significativamente la funzione motoria e l'equilibrio nei pazienti con PD (Song, 2017). Una revisione sull'effetto dell'esercizio tradizionale cinese sulla PD ha mostrato un effetto positivo del Tai Chi e dell'esercizio Qigong nel migliorare la funzione motoria e l'equilibrio nei pazienti con PD lieve-moderata (Yang, 2014). Quindi, ci sono prove sufficienti da studi di alta qualità che il Tai Chi è sicuro, fattibile, e può migliorare la stabilità posturale nella PD. Poiché mancano studi longitudinali a lungo termine, in quanto la durata dei benefici del Tai Chi non è chiara. Nocera e colleghi (2013) hanno riportato un miglioramento della funzione esecutiva dopo il Tai Chi.

Lo yoga è una disciplina che risale all'India circa 2000 a.C., ma solo recentemente ha guadagnato popolarità in tutto il mondo occidentale. I risultati preliminari di due revisioni suggeriscono che lo yoga fornisce modesti miglioramenti nella mobilità funzionale, nell'equilibrio, nella flessibilità degli arti superiori e inferiori e nella forza. Lo yoga aiuta anche a ridurre la paura di cadere. Le prove attuali suggeriscono che lo yoga è benefico e sicuro per le popolazioni PD (Keus, 2007). Tuttavia, sono necessari studi futuri per determinare le implicazioni a lungo termine e il dosaggio della terapia yoga (frequenza, intensità e tempi) nella popolazione PD.

L'allenamento progressivo di resistenza (PRT) è un intervento relativamente nuovo per la PD. Saltychev et al. (2016) hanno sottolineato la mancanza di dati solidi sull'effetto del PRT nella PD. Silva-Batista e colleghi (2017) hanno scoperto che il gruppo PD sottoposto ad allenamento di resistenza ha avuto un miglioramento significativo della qualità del sonno. Lo studio ha utilizzato il Pittsburgh Sleep Quality Index per valutare la qualità del sonno prima e dopo l'intervento. Una revisione di Chung e colleghi (2016) ha descritto gli effetti positivi dell'allenamento di resistenza sulla forza e l'equilibrio negli adulti con la malattia di Parkinson. Inoltre, i sintomi motori comuni nel Parkinson sono significativamente ridotti. Sulla base dei parametri riportati da questa revisione, le persone con il morbo di Parkinson sembrano trarre beneficio da un programma di resistenza a volume relativamente basso e intensità moderata della durata minima di 8 settimane. Questa revisione ha anche evidenziato la necessità di progredire il carico di allenamento basato sul principio del sovraccarico per stressare i muscoli per suscitare una risposta adattativa a un nuovo carico e quindi migliorare la forza muscolare e l'ipertrofia.

Anche se la maggior parte degli studi suggerisce che l'esercizio fisico promuove il miglioramento dei sintomi motori e non motori nella PD, molte domande rimangono senza risposta. Per esempio, quale forma di esercizio è più efficace nel ridurre il rischio di PD o nel migliorare i sintomi motori e non motori, quanto frequentemente l'esercizio dovrebbe essere eseguito per ottenere il massimo beneficio, e quando l'esercizio dovrebbe iniziare. Sono necessari ulteriori studi per capire quale protocollo di esercizio sia più vantaggioso e per determinare la "dose" adeguata di esercizio (cioè, frequenza, intensità e durata) per ottenere migliori risultati.

2.4. Influenza dell'esercizio fisico sui fattori neurotrofici

I fattori neurotrofici sono un ampio gruppo di fattori di crescita e citochine che agiscono sulla neurogenesi ed il miglioramento dei collegamenti sinaptici del sistema nervoso periferico e centrale. Possono stimolare la crescita dei neuriti, mantenere la vitalità e indurre la differenziazione. Le neurotrofine sono espresse in un'ampia gamma di tessuti, coerentemente con l'idea che funzionino principalmente come fattori di sopravvivenza (Kaplan e Miller, 2000; Reichardt, 2006; Hempstead, 2015). Il fattore di crescita nervoso (NGF) è stato inizialmente immaginato come un agente del sistema nervoso periferico, ma ha anche alcune funzioni del sistema nervoso centrale. Al contrario, il fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF) è principalmente importante nel cervello, e come tale ha ricevuto una notevole attenzione come bersaglio per le comuni malattie del SNC, come il morbo di Parkinson. Nei modelli animali, le neurotrofine come il BDNF, il fattore di crescita insulino-simile-I (IGF-I) e l'NGF sono

drasticamente aumentati durante le prime 4 settimane di allenamento (Murphy, 2009), creando un "mezzo neuroplastico" in cui il rimodellamento corticale nel cervello intatto è ottimizzato (Carmichael, 2006). L'esercizio aerobico è uno dei diversi interventi comportamentali noti per influenzare le neurotrofine, neuroplasticità e cognizione (Angevaren, 2008).

2.4.1. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

Una sostanza endogena che gioca un ruolo centrale nella salute dei neuroni è il fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF). Il BDNF è una proteina che si trova in alte concentrazioni nel sistema nervoso centrale, principalmente nelle regioni cerebrali dell'ippocampo, corteccia cerebrale, ipotalamo e cervelletto (Murer et al., 2001). Il BDNF centrale può attraversare la barriera emato-encefalica e quindi essere memorizzato in altre aree del corpo, tuttavia, può anche essere prodotto dai tessuti in periferia, rendendo difficile identificare negli esseri umani se cambiamenti nei livelli sierici di BDNF sono il risultato di cambiamenti a livello centrale o periferico (Erickson et al., 2012; Murer et al., 2001). Il BDNF agisce attraverso il suo recettore tirosin-chinasico, TrkB, per promuovere la differenziazione neuronale e la sopravvivenza (Cotman, 2002). Il BDNF è implicato nello sviluppo e nel funzionamento neurale, tra cui la neurogenesi, la crescita dendritica, e il potenziamento a lungo termine dei neuroni (Altar, 1999; Lu et al., 2005). Oltre alle sue azioni neurotrofiche e sinaptotrofiche, come la promozione della crescita e della sopravvivenza dei neuroni (Aloe e Calza, 2004; Thoenen, 1995), l'apprendimento e la memoria (Ma et al., 1998), il BDNF può svolgere importanti ruoli metabo-trofici come la regolazione dell'assunzione di cibo (Xu et al., 2003), il metabolismo del glucosio e dei lipidi, e l'omeostasi energetica (Chaldakov, 2011; Nakagawa et al., 2000; Noble et al., 2011; Tsuchida et al., 2002). Il BDNF è presente nel sistema nervoso e nei tessuti periferici, e si trova anche nel sangue (Fujimura et al., 2002; Radka et al., 1996; Rosenfeld et al., 1995). Studi di esercizio fisico su roditori hanno dimostrato che la corsa su tapis roulant ha aumentato BDNF ippocampale (Neeper, 1996) e hanno implicato il BDNF come una delle influenze centrali sulla plasticità del cervello (Molteni, 2002). Le revisioni non quantitative della letteratura forniscono la prova che il BDNF aumenta dopo l'esercizio aerobico acuto nei roditori e nell'uomo (Huang et al., 2014; Zoladz e Pilc, 2010). I modelli animali forniscono prove più consistenti per l'upregulation di BDNF indotta dall'esercizio, data la capacità di misurare il BDNF a livello centrale; tuttavia, gli studi indicano che i livelli periferici (siero e plasma) e centrali di BDNF sono correlati nei modelli murini (Angelucci et al., 2011), con alcune prove per associazioni simili negli esseri umani (Krabbe et al., 2007). C'è anche la prova provvisoria che i livelli periferici di BDNF possono avere effetti centrali (Schmidt e Duman, 2010). Date le prove dell'aumento del BDNF, l'esercizio fisico può essere visto

come una potenziale strategia per indurre l'attività del BDNF da applicare al miglioramento dell'umore o della cognizione. Infatti, singoli studi hanno dimostrato l'effetto di più alti livelli di BDNF su numerosi processi cognitivi. Per esempio, livelli più elevati di BDNF sono stati associati a una migliore memoria spaziale (Erickson et al., 2009), episodica (Egan et al., 2003), di riconoscimento (Whiteman et al., 2014) e verbale (Grassi-Oliveira et al., 2008) e a un migliore funzionamento dell'ippocampo (Erickson et al., 2012). Inoltre, la diminuzione dei livelli di BDNF, in particolare negli adulti più anziani, è stata associata all'atrofia dell'ippocampo e può contribuire al deterioramento della memoria, che può essere collegato alle problematiche cognitive vissute nell'Alzheimer (Erickson et al., 2012). Recensioni qualitative (Huang et al., 2014; Zoladz e Pilc, 2010) presentano prove significative che l'esercizio migliora i livelli di BDNF; tuttavia, non forniscono la grandezza o l'affidabilità di questo effetto. L'esercizio aerobico è proposto per indurre l'espressione di BDNF in tutto il sistema nervoso centrale, che a sua volta, può migliorare la plasticità sinaptica (Pedersen, 2009). Una recente revisione e meta-analisi di 29 studi che indagano l'effetto dell'esercizio su BDNF in esseri umani sani (Ruscheweyh, 2009) ha trovato che una singola sessione di esercizio aerobico aumenta significativamente i livelli di BDNF immediatamente dopo l'esercizio dimostrando un effetto moderato. Utilizzando soggetti umani, Colcombe e colleghi (2003) hanno riferito che tra una popolazione di adulti anziani, c'era una riduzione del declino basato sull'età nella densità del tessuto nella corteccia frontale, parietale e temporale in funzione della fitness cardiovascolare. Questi risultati associati all'esercizio sarebbero coerenti con le azioni neurotrofiche (Cotman, 2002) e/o neurogeniche (van Praag, 1999) del BDNF. Pochi studi hanno esaminato la risposta di BDNF all'esercizio nell'uomo. Uno studio di Gold et al. (2003) ha riportato aumenti nel BDNF sierico in sani controlli e pazienti con sclerosi multipla in risposta a acuto esercizio, ma solo un'intensità di esercizio è stato selezionato.

2.4.2. Nerve growth factor precursor (proNGF)

L'NGF promuove la crescita e la sopravvivenza dei neuroni sensoriali e simpatici: processi che sono probabilmente benefici per la plasticità neurale (Park, 2013). L'NGF maturo è efficace in basse quantità per promuovere la sopravvivenza cellulare e la crescita dei neuriti attraverso il TrkA (Friedman, 2000). L'NGF viene secreto dalla microglia e dagli astrociti attraverso un processo proteolitico a partire dal proNGF, lega il recettore TrkA e svolge un ruolo neuroprotettivo nel corpo. Nei pazienti affetti da PD, questo processo proteolitico può essere ostacolato; di conseguenza, i livelli di NGF sono diminuiti. È interessante notare che in questa categoria di pazienti è ridotta anche la concentrazione di proNGF. Oltre ad essere il precursore del NGF, il proNGF si lega con elevata affinità al recettore p75NTR, innescando l'apoptosi delle cellule

neuronalmente tramite il complesso di segnalazione p75NTR-sortilina. Il complesso di segnalazione proNGF-p75NTR-sortilina autodistruttivo si assembla in modo specifico nei neuroni della dopamina nella SNpc, suggerendo che il proNGF può svolgere un ruolo importante nella progressione della neurodegenerazione. È stato individuato che l'accumulo di proNGF è correlato al declino cognitivo nella patologia di Alzheimer, mentre nei neuroni dopaminergici è stata dimostrata una sostanziale espressione della proteina proNGF e p75NTR nei neuroni dopaminergici della substantia nigra, aumentando la suscettibilità alle lesioni neurotossiche (Xu et al., 2018). Molto lavoro deve essere fatto per chiarire le differenze tra le caratteristiche biologiche e le attività di proNGF e NGF. Non è chiaro se proNGF e NGF sono entrambi internalizzati dalle cellule e se sono internalizzati alla stessa velocità. Non si sa se sono entrambi trasportati retrogradamente alla stessa velocità, o se le vie di trasduzione del segnale indotte da NGF sono attivate in modo simile dal proNGF. Anche se diversi studi hanno riportato che il proNGF ha attività neurotrofica simile a quella del NGF maturo (Chen et al., 1997; Rattenholl et al., 2001), altri studi hanno trovato che la sua attività è da due a venti volte meno potente di quella del NGF maturo (Yu et al., 2002). L'esercizio fisico può essere un valido aiuto nel favorire l'aumento di questa neurotrofina. Studi su cervelli di animali da laboratorio hanno dimostrato un aumento dell'espressione del NGF in seguito a programmi di esercizio aerobico e di resistenza (Ozbeyli et al., 2017). In uno studio condotto da Radak e colleghi (2006) è stata dimostrata una riduzione di NGF in seguito alla cessazione dei programmi di allenamento, suggerendo un ruolo efficace dell'esercizio fisico nell'aumentare i livelli del fattore neurotrofico e favorendo miglioramenti della memoria nei ratti da laboratorio. Diversi studi hanno confermato un aumento delle cellule NGF-positive nella corteccia ipsilesionale dopo 14 a 28 giorni di allenamento: sia moderata che ad alta intensità durante un esercizio forzato (Chung, 2010; Matsuda, 2011) o 14 giorni durante un esercizio volontario (12 h/giorno) (Mizutani, 2011). Sia Chung e colleghi (2010) che Matsuda e colleghi (2011) hanno mostrato un effetto della durata dell'esercizio con l'aumento di NGF-positivo cellule nel tempo, con un picco al giorno 16 (Chung, 2010) e 28 (Matsuda, 2011).

2.4.3. Fibroblast growth factor 21 (FGF-21)

La famiglia dei fattori di crescita per i fibroblasti (FGF) presenta, ad oggi, 23 membri coinvolti nella regolazione e nella differenziazione della crescita cellulare, nella guarigione delle ferite, nello sviluppo neuronale e nell'angiogenesi. Gli FGF presentano una regione omologa di circa 120-130 amminoacidi; le differenze tra le varie molecole sono poste nelle estremità amminiche e carbossiliche. Suomalainen e colleghi (2011) hanno pubblicato uno studio su 67 pazienti affetti da disturbi mitocondriali e hanno suggerito l'FGF-21 (fibroblast growth factor 21) come nuovo

biomarcatore per i disturbi mitocondriali. FGF-21 è stato identificato come il 21° membro della super famiglia FGF, che risulta essere più abbondantemente espresso nel fegato, oltre che nel pancreas e tessuto adiposo (Nishimura, 2000). Nel 2005, l'FGF-21 è stato introdotto per la prima volta come nuovo regolatore metabolico (Kharitonov et al., 2005). L'FGF-21 regola l'omeostasi energetica attraverso il miglioramento della funzione e dell'efficienza mitocondriale. Quindi, nei pazienti con disturbi mitocondriali, l'espressione di FGF-21 viene elevata nel tentativo di contrastare la sottostante carenza metabolica (Makela, 2014). Un importante protagonista dell'azione a valle della attività dell'FGF-21 è il recettore PPAR- γ . Quest'ultimo è espresso principalmente negli adipociti e agisce aumentando la sensibilità dei tessuti all'insulina. Nel sistema nervoso protegge le unità neurovascolari dal danno ischemico, riducendo l'infiammazione e lo stress ossidativo, migliorando l'angiogenesi e inibendo l'apoptosi dei neuroni. Lo stato ossidativo e le anomalie nell'azione mitocondriale che si verificano nei neuroni dopaminergici dei soggetti affetti dalla malattia di Parkinson offrono un valido bersaglio di azione per questo fattore di crescita, suggerendo un effetto neuroprotettivo in questa categoria di soggetti (Kakoty et al., 2020). È stato dimostrato che FGF-21 nei neuroni dopaminergici migliora l'attività respiratoria mitocondriale e attiva la componente perossisomiale, funzioni che nei soggetti affetti da PD sono notevolmente ridotte (Davis et al., 2020). L'effetto neuroprotettivo sembra essere anche associato a una riduzione della aggregazione dell' α -sinucleina causate dalla presenza di MPTP, esito derivato da esperimenti animali. La stimolazione di SIRT1 ad opera di FGF-21 può regolare l'autofagia, riducendo così la tossicità dell' α -sinucleina nel PD. Di conseguenza FGF-21 svolge un ruolo cruciale nella degenerazione in questi soggetti, suggerendo potenziali implicazioni del fattore di crescita nella gestione della patologia (Chen et al., 2020). Le concentrazioni muscolari di FGF-21 aumentano rapidamente in seguito alla stimolazione acuta e questo si traduce in un aumento del rilascio in circolo, in quanto FGF prodotto dal muscolo ha effetti autocrini, paracrini ed endocrini (Tanimura et al., 2016).

2.5. Influenza dell'esercizio fisico sull'alfa-sinucleina

Studi recenti hanno dimostrato che la normale funzione fisiologica dell' α -sinucleina coinvolge ruoli nella compartimentazione, stoccaggio e riciclaggio dei neurotrasmettitori (Reish, 2015). Inoltre, l' α -sinucleina è associata alla regolazione fisiologica di alcuni enzimi e si pensa che aumenti il numero di molecole trasportatrici di dopamina (Lee, 2002). L'alfa-sinucleina esiste in varie conformazioni in un equilibrio dinamico, modulato da molti fattori, tra cui fattori interni ed esterni che accelerano o inibiscono la fibrillazione (Karpinar et al, 2009). Come menzionato prima, le mutazioni legate alla malattia influenzano l'aggregazione dell' α -sinucleina. Tutte le mutazioni

note associate al PD familiare (Ala53Thr, Ala30Pro, Glu46Lys, His50Gln, Gly51Asp, e Ala53Glu) si trovano nel dominio N-terminale (Dehay, 2015). Le mutazioni Glu46Lys, His50Gln, e Ala53Glu (Pasanen, 2014) possono promuovere l' α -sinucleina a formare aggregati insolubili e produrre oligomeri. Tuttavia, come queste mutazioni accelerino l'aggregazione non è stato completamente chiarito. La fosforilazione di α -sinucleina è essenziale e sufficiente nel processo di degradazione nelle malattie neurodegenerative. Alcuni dati hanno indicato che la fosforilazione mediata da polo-like kinase (PLK) 2 di S129 ha aumentato la degradazione mediata dall'autofagia di α -sinucleina, suggerendo che la fosforilazione potrebbe essere un meccanismo neuroprotettivo per accelerare la rimozione della proteina aggregata (Inglis, 2009). Inoltre, numerosi dati hanno suggerito che l' α -sinucleina si auto-propaga (Recasens, 2014). Normalmente, un piccolo numero di aggregati viene smaltito dalle vie di degradazione della proteina; tuttavia, se, nel tempo, gli aggregati si accumulano oltre una certa soglia, potrebbero auto-propagarsi, contribuendo alla progressione della PD. Minakaki e colleghi (2019) hanno valutato gli effetti di 4 settimane di esercizio aerobico su treadmill su topi. L'esercizio sul treadmill ha migliorato la velocità e la lunghezza della falcata. Le analisi biochimiche hanno mostrato una riduzione di alfa-sinucleina nella corteccia cerebrale. In sintesi, l'esercizio del tapis roulant ha migliorato l'attività dell'andatura e la stabilità posturale, e ha promosso l'omeostasi dopaminergica e di alfa-sinucleina. Zhou e colleghi (2017) hanno evidenziato, su uno studio su topi, che l'esercizio migliora significativamente la funzione motoria e cognitiva riducendo drasticamente l'accumulo di oligomeri di α -sinucleina nel cervello, aumentandone le concentrazioni plasmatiche. Il meccanismo con cui l'esercizio fisico porta a questi effetti benefici è correlato alla sovraregolazione della proteina deglicasi (DJ-1) e altri fattori neuroprotettivi come Hsp70 e BDNF nel cervello. Una maggiore espressione di DJ-1 può rendere i neuroni più resistenti allo stress ossidativo e all'accumulo di proteine mal ripiegate. Nello studio di Zhou e colleghi (2017) l'esercizio porta l'aumento di DJ-1 e Hsp70 nel cervello che impedisce la formazione di α -sinucleina.

CAPITOLO 3

3. Whole Body ElectroMyoStimulation (WB-EMS)

3.1. Definizione

L'elettromiostimolazione total body (WB-EMS) sta diventando sempre più popolare come nuova tecnologia di allenamento (Amaro-Gahete et al., 2018). Mentre la tradizionale elettromiostimolazione locale produce una stimolazione esterna di singoli gruppi muscolari specifici, la WB-EMS è in grado di stimolare contemporaneamente fino a 14-18 regioni di 8-12 gruppi muscolari diversi con un'area fino a 2.800 cm², combinando globalmente la miostimolazione elettrica con movimenti funzionali (Pano-rodriguez, 2019) (Figura 6).



Figura 6. Strumentazione WB-EMS (Kemmler et al., 2017).

L'elettromiostimolazione total body (WB-EMS) è stata recentemente utilizzata come un'opzione di allenamento della resistenza (Pano-Rodriguez, 2020). Kemmler e colleghi (2020) suggeriscono di definire la WB-EMS come "applicazione simultanea di stimoli elettrici attraverso almeno sei canali di corrente o partecipazione di tutti i principali gruppi muscolari, con un impulso di corrente efficace per innescare gli adattamenti muscolari". Questa stimolazione simultanea di grandi aree muscolari, ciascuna con un'intensità di impulso dedicata, fornisce l'"efficacia temporale" della

WB-EMS, una caratteristica chiave di questo metodo di allenamento. Tuttavia, oltre alla sua "efficienza", la tecnologia EMS applicata localmente o globalmente permette un carico di lavoro sovramassimale senza un elevato sforzo volontario (Watanabe et al., 2019). Questa caratteristica unica di efficienza e alto carico di lavoro con basso sforzo volontario può spiegare la crescente attrattiva del WB-EMS per i professionisti della salute, del fitness e della performance. Questa applicazione WB-EMS permette di esercitare tutte le catene cinetiche simultaneamente eseguendo esercizi e movimenti durante la stimolazione. Inoltre, WB-EMS è una metodologia di allenamento ottimale in termini di rapporto tempo-beneficio soprattutto per le persone che non sono in grado e non vogliono esercitare con lo sforzo richiesto (Kemmler, 2016). Questo tipo di regime potrebbe essere al tempo stesso poco dispendioso in termini di tempo e meno debilitante, producendo una maggiore accettazione e aderenza tra i soggetti sedentari. Infatti, il WB-EMS ha dimostrato avere un'alta aderenza e bassi tassi di abbandono tra gli anziani (Kemmler, 2010). Alcuni studi hanno dimostrato che 18 minuti di allenamento, due volte alla settimana per 12 mesi, hanno aumentato la massa muscolare, la forza e hanno diminuito la massa grassa addominale (Kemmler, 2010). La WB-EMS è una metodologia di allenamento che fa risparmiare tempo, soprattutto per le persone che non hanno la capacità di eseguire un esercizio fisico prolungato (Kemmler, 2016). Nonostante la dimostrazione di risultati promettenti, pochi studi hanno indagato l'efficacia del WB-EMS negli anziani o i risultati dei pazienti relativi alla capacità funzionale e al follow-up (Kemmler, 2010). Gli studi che coinvolgono la WB-EMS negli anziani sono scarsi e hanno valutato solo risultati strutturali come la composizione corporea, la forza, o risultati di laboratorio come i profili lipidici (Kemmler, 2014). Come strumento di allenamento, il WB-EMS offre buoni risultati sulla composizione corporea, sul miglioramento della forza tramite adattamenti neuromuscolari, sulla coordinazione intermuscolare e sulle dimensioni dei muscoli, e sull'aumento del consumo energetico (Watanabe, 2019). La sessione WB-EMS dovrebbe essere sempre eseguita sotto la direzione di professionisti qualificati e autorizzati per evitare rischi di applicazione errata, soprattutto per la popolazione con esigenze speciali.

3.2. Evidenze scientifiche

3.2.1. Effetti sui fattori di rischio e sulle malattie muscoloscheletriche

Alcuni studi hanno valutato gli effetti delle WB-EMS su outcome muscoloscheletrici relativi alla salute in soggetti non-atleti. Otto di questi studi hanno considerato la massa muscolare, la sarcopenia e l'obesità sarcopenica come endpoint principale dello studio. Due studi hanno anche affrontato (Kemmler et al., 2013; Von Stengel et al., 2015) la densità minerale ossea in donne in postmenopausa con osteopenia e altri quattro studi hanno dato risultati sul dolore lombare (LBP)

(Grützmacher, 2002; Kemmler et al., 2017). Un altro progetto che ha determinato l'effetto del WB-EMS sulla capacità aerobica (Fritzsche et al., 2010) ha valutato la massa magra come risultato secondario dello studio. Tutti gli studi WB-EMS che hanno valutato in modo affidabile il rapporto massa magra/grassa (Kemmler et al., 2010; 2014; 2016; 2017) ne hanno riportato effetti significativi (cioè, differenze tra WB-EMS e gruppo di controllo). Solo uno studio ha confrontato direttamente il WB-EMS con un allenamento di resistenza ad alta intensità (HIT) (Kemmler et al., 2016) di efficacia temporale comparabile. Questo studio ha dimostrato incrementi significativi per entrambi i gruppi con effetti leggermente superiori ($p \geq 0,341$) su massa magra e massa muscolare scheletrica appendicolare (ASMM) nel gruppo HIT.

Passando dalla sarcopenia all'osteopenia, solo uno studio (Von Stengel et al., 2015) ha affrontato la densità minerale ossea come endpoint dello studio. Dopo 12 mesi di applicazione di WB-EMS $1,5 \times 20$ min/settimana con donne osteopeniche over 70 anni, gli autori hanno riportato un effetto borderline non-significativo per la densità minerale ossea nella colonna lombare senza alcun effetto rilevante nella regione dell'anca di interesse. Considerando l'elevato effetto della WB-EMS sulla massa e la forza muscolare e la stretta interazione tra muscoli e ossa (Ferretti et al., 2003; Qin et al., 2010) questo risultato non era atteso.

Per quanto riguarda il dolore lombare (LBP), sono stati identificati quattro studi che determinavano l'effetto della WB-EMS sul mal di schiena in persone con disturbi rilevanti. Grützmacher e colleghi (2002) hanno riportato in sintesi una riduzione della frequenza del dolore dorsale nell'89% dei loro 49 partecipanti WB-EMS. È importante notare che i miglioramenti più alti sono stati dati per la regione della colonna lombare. Tuttavia, due partecipanti hanno riportato cambiamenti negativi del LBP dopo la WB-EMS. Lo stesso vale per lo studio di Fritzsche e colleghi. (2010), che ha riportato che il mal di schiena nei partecipanti "è stato completamente eliminato dopo alcune sessioni di WB-EMS".

In sintesi, la WB-EMS è particolarmente efficace per affrontare la massa muscolare in persone non allenate, indipendentemente dall'età, dal sesso e dallo stato muscolare. Inoltre, c'è una notevole evidenza di un significativo effetto favorevole del WB-EMS sul dolore lombare, mentre l'effetto corrispondente sulla densità minerale ossea era solo borderline e dovrebbe essere rivalutato.

3.2.2. Effetti sulla forza muscolare, sulla capacità funzionale e sui parametri correlati

L'effetto positivo dell'EMS terapeutica applicata localmente sulla debolezza muscolare in atleti (Filipovic et al., 2012), soggetti sani (Filipovic et al., 2011), o persone con malattie croniche (Jones et al., 2016) è ben riconosciuto.

Undici studi WB-EMS hanno riportato la forza e/o i parametri funzionali come endpoint primario o secondario dello studio. In sintesi, tutti gli studi che hanno determinato la forza muscolare, la potenza e/o i parametri funzionali (ad esempio, la velocità dell'andatura, la forza di presa della mano) hanno riportato miglioramenti significativi che differiscono significativamente dai loro corrispondenti gruppi di controllo non attivi o semi-attivi. Gli effetti della WB-EMS erano in media dell'8-19% rispetto a un gruppo di controllo semi-attivo o inattivo, e dal 6% all'11% (rispetto a un gruppo di controllo attivo. Kemmler e colleghi (2015) hanno confrontato l'effetto di due protocolli condotti una volta alla settimana per 20 min applicati in posizione supina, con e senza leggeri movimenti durante le identiche impostazioni WB-EMS. Gli autori hanno riportato significativi miglioramenti della forza degli estensori delle gambe e dell'anca (leg press) in entrambi i gruppi; tuttavia, l'applicazione WB-EMS con i leggeri movimenti senza alcuna resistenza ha significativamente superato l'approccio "solo WB-EMS" (24 vs 13%).

Gli studi che hanno confrontato l'effetto dei protocolli WB-EMS rispetto all'esercizio convenzionale di resistenza sono rari. Solo uno studio ha confrontato direttamente l'effetto del WB-EMS rispetto a un protocollo HIT comparabilmente efficace in termini di tempo (Gießing, 2008). Di rilievo, gli autori hanno riportato aumenti significativi per entrambi i protocolli di esercizio. In dettaglio, HIT era leggermente più favorevole nell'influenzare la forza degli estensori delle gambe e dell'anca (leg press), mentre WB-EMS era non significativamente più efficace nel migliorare la forza degli estensori della schiena.

I test funzionali con gli anziani sono stati condotti da tre studi (Von Stengel et al., 2015; Kemmler et al., 2016, 2017). Tutti i progetti si sono concentrati prevalentemente sull'effetto del WB-EMS sulla composizione corporea e sui parametri funzionali in donne e uomini di 70 anni e con obesità sarcopenica. Effetti positivi significativi sulla velocità dell'andatura (7-10%) e sulla forza di presa (5-10%) sono stati riportati.

Per quanto riguarda i parametri legati alla resistenza, tre studi (Fritzsche et al., 2010; van Buuren et al., 2013) hanno determinato effetti indotti da WB-EMS in coorti non atletiche. In primo luogo, Fritzsche e colleghi (2010) hanno riportato un aumento del 25% ($p < 0,05$) del VO₂max per i

pazienti con insufficienza cardiaca cronica. van Buuren e colleghi (2014) hanno riportato cambiamenti significativi nella VO₂peak e VO₂ alla soglia anaerobica dopo allenamento con WB-EMS, in pazienti con insufficienza cardiaca congestizia.

3.2.3. Effetti sui fattori di rischio cardio-metabolici

Considerando il grasso corporeo come fattore di rischio cardio-metabolico e l'obesità come malattia cardio-metabolica, undici progetti si sono concentrati su - o almeno hanno riportato dati su - questo tema.

Due studi (Fritzsche et al., 2010; van Buuren et al., 2013, 2014) si sono concentrati sull'effetto del WB-EMS in pazienti con insufficienza cardiaca cronica (CHF). Mentre Fritzsche e colleghi (2010) si sono concentrati sulla prevenzione secondaria, van Buuren e colleghi (2013) hanno riportato un aumento significativo della frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) del 13% dopo WB-EMS contro un leggero aumento del 6% ($p = 0,27$) nel gruppo EMS locale. In un sottostudio di questo gruppo di ricerca (van Buuren et al., 2013) che si è concentrato solo sugli uomini, van Buuren e colleghi (2014) hanno fornito risultati comparabili (LVEF: WB-EMS: 15%, $p < 0,05$ vs EMS: 7%). Purtroppo, gli autori non hanno fornito i livelli di significatività delle differenze di gruppo corrispondenti. Due studi hanno riportato l'effetto della WB-EMS sulla Sindrome Metabolica (MetS) in donne over 70 con obesità sarcopenica (Wittmann et al., 2016) o uomini non allenati prevalentemente sovrappeso-obesi di 30-50 anni (Kemmler et al., 2016b). Quest'ultimo studio (Kemmler et al., 2016b) ha presentato un miglioramento significativo del MetS Z-Score dopo 16 settimane di WB-EMS a bassa frequenza che era notevolmente superiore ($p = 0,096$) rispetto al gruppo di controllo dell'allenamento di resistenza ad alta intensità (HIT). I risultati dello studio di Wittmann et al. (2016) erano meno distinti. Mentre il WB-EMS isolato non ha indotto un miglioramento significativo del MetS-Z Score, una combinazione di integrazione proteica a basso dosaggio (0,33 g/d/kg di massa corporea) e WB-EMS dimostra risultati più favorevoli e significativi. La circonferenza della vita e la pressione arteriosa media (MAP) hanno dimostrato la riduzione più pronunciata. Quest'ultimo risultato è stato confermato da Fritzsche et al. (2010) e respinto da van Buuren et al. (2013), che hanno riportato riduzioni significative o lievi aumenti della RR sistolica e diastolica dopo WB-EMS in pazienti con CHF.

Non sono stati osservati cambiamenti o effetti rilevanti per HDL-C, trigliceridi o glucosio a digiuno che costituiscono ulteriormente criteri di MetS (Expert-Panel, 2001; Alberti et al., 2006); tuttavia, ci sono alcune prove che i protocolli combinati WB-EMS e integrazione di proteine potrebbero essere più efficaci per generare un effetto significativo.

Per quanto riguarda il grasso corporeo o l'obesità, i dati attuali hanno suggerito che l'effetto positivo indotto dalla WB-EMS sui parametri di grasso corporeo totale e addominale è ancora più alto dell'effetto corrispondente sulla massa muscolare. Infatti, indipendentemente dal metodo di prova, tutti gli studi (Vatter, 2003; Fritzsche et al., 2010; Kemmler et al., 2010, 2014, 2016, 2017; Özdal e Bostanci, 2016; Wittmann et al., 2016) hanno elencato effetti significativi o almeno favorevoli indotti dalla WB sul grasso corporeo totale e/o addominale. Solo uno studio (Özdal e Bostanci, 2016) ha fornito risultati confusi, con riduzioni di grasso totale (WB-EMS: $-15,1 \pm 6,2\%$ vs. CG: $-1,0 \pm 4,2$) e addominale (WB-EMS: $-20,3 \pm 6,2\%$ vs. CG: $0,3 \pm 0,8\%$) molto elevate nel gruppo WB-EMS attivo (cioè con esercizi coadiuvanti di intensità moderata), mentre la WB-EMS "passiva" (non volontaria) non ha influenzato in modo rilevante i parametri del grasso corporeo. Questo risultato implicherebbe che gli effetti favorevoli sul grasso corporeo potrebbero essere attribuiti esclusivamente all'esercizio volontario senza alcun contributo rilevante di WB-EMS. Anche se i cambiamenti dei parametri del grasso corporeo possono essere effettivamente più elevati quando si applicano movimenti adjuvanti (Kemmler et al., 2015), la dimensione degli effetti sul grasso corporeo addominale e totale è rimasta discutibile almeno quando si considera il breve periodo di allenamento in queste femmine di peso normale senza alcun intervento nutrizionale.

L'effetto della WB-EMS sui fattori di rischio cardiaco e metabolico è abbastanza complesso e può essere innescato dalla riduzione clinicamente rilevante del grasso corporeo totale e addominale riportata dalla maggior parte degli studi. Infatti, l'obesità centrale, che abbraccia il tessuto adiposo sottocutaneo e intra-addominale, provoca un'inflammatione di basso grado legata a una pletera di effetti negativi tra cui l'aumento della resistenza all'insulina (Zhang et al., 2015), aterosclerosi (King e Ajjan, 2017), ipertensione (Lakoski et al., 2011), dislipidemia (Bastien et al., 2014), e ridotta funzione ventricolare sinistra (Gaborit et al., 2012). In parallelo, i dati esistenti per l'esercizio di resistenza, il tipo di esercizio più simile al WB-EMS, hanno confermato l'effetto favorevole dell'esercizio di tipo RT sull'obesità e sulle malattie cardio-metaboliche correlate (Strasser e Pesta, 2013).

3.2.4. Fattori di rischio e controindicazioni

A causa dell'elevato volume di area muscolare stimolata simultaneamente (fino a 2.800 cm^2) e la possibilità di esercitare con un'intensità sovramassimale in grado di generare un tetano completo del muscolo, la WB-EMS può indurre gravi danni muscolari e rbdomiolisi da sforzo (Koch et al., 2014). Il fattore scatenante della rbdomiolisi indotta dall'EMS sembrava ovviamente essere

un'intensità di corrente eccessivamente alta durante le sessioni di allenamento iniziali. Una recente linea guida per l'applicazione sicura ed efficace del WB-EMS in contesti commerciali (Kemmler et al., 2016a) affronta questo problema e controindica fortemente le alte intensità di carico durante le sessioni iniziali e un incremento graduale dopo il corrispondente periodo di condizionamento WB-EMS di 10 settimane. Oltre ai possibili effetti indotti dalla rhabdmiolisi sugli elettroliti con possibile impatto sul sistema cardiaco, anche se non confermato dagli studi attuali (Kemmler et al., 2015b; Teschler et al., 2015, 2016), un effetto indotto dalla corrente diretta sulla conduzione elettrica cardiaca potrebbe essere un rischio rilevante della WB-EMS. Di conseguenza, l'aritmia cardiaca e i pacemaker sono stati considerati controindicati per l'applicazione di WB-EMS e elencati come tali in diversi manuali dei distributori. Tuttavia, la prova scientifica che le attuali specifiche di WB-EMS a bassa frequenza di per sé influenzano la conduzione elettrica cardiaca non è convincente. A parte le malattie cardiache croniche legate alla conduzione elettrica (ad esempio, aritmia cardiaca), alcuni studi hanno applicato esplicitamente EMS (Fritzsche et al., 2010; van Buuren et al., 2013, 2014) in pazienti con insufficienza cardiaca cronica bassa senza effetti collaterali negativi.

Altri effetti collaterali metabolici indesiderati della WB-EMS potrebbero essere debolezza post-esercizio, vertigini o mal di testa. Anche se è difficile analizzare retrospettivamente le ragioni specifiche, ci sono alcune prove per collegare questi disturbi a un'intensità totale eccessivamente alta dell'applicazione WB-EMS e/o a una cattiva preparazione e post-elaborazione della sessione WB-EMS da parte dell'utente. Questo include un adeguato rifornimento di energia e liquidi prima e dopo la sessione WB-EMS e l'astensione da alcol e droghe prima della sessione WB-EMS. In questo contesto, un adeguato rifornimento di energia e di liquidi è particolarmente importante a causa del picco di richiesta di energia moderata-alta di una sessione WB-EMS standard (Kemmler et al., 2012b). Recenti raccomandazioni per una corretta preparazione di una sessione WB-EMS da parte di istruttori e utenti sono fornite nella linea guida WB-EMS (Kemmler et al., 2016a) che è obbligatoria all'interno della procedura di licenza sopra citata per le strutture commerciali WB-EMS.

CAPITOLO 4

4. Studio sperimentale in acuto

4.1. Premessa

Per i soggetti affetti da Parkinson è fondamentale aderire a programmi di attività motoria strutturata in quanto induce miglioramenti sia sui sintomi motori che non motori, come ampiamente descritto nei capitoli precedenti; le WB-EMS possono essere un'ottima strategia di allenamento per questa popolazione grazie al loro beneficio in termini di tempo-efficienza, in quanto è stato dimostrato che 20 minuti di allenamento corrispondono a circa 90 minuti di allenamento tradizionale (Kemmler, 2016); inoltre, permettono di individualizzare il programma di allenamento grazie al loro rapporto 1:1, e questo è fondamentale per questi soggetti in quanto la sintomatologia del Parkinson poco si sposa ad un'attività di gruppo, per via della grande varietà di sintomatologia che questi soggetti possono presentare. Quindi, garantire un allenamento individualizzato e in poco tempo (20 min) può portare ad un aumento dell'aderenza a programmi di attività motoria. Questo è il primo studio in cui la WB-EMS è stata applicata a pazienti con patologie neurodegenerative come il PD, per questo motivo la prima fase del nostro studio è stata quella di valutare la reazione dei soggetti a questa metodica; la seconda fase, invece, si è focalizzata sulla ricerca della metodica di allenamento più adatta ed efficace. Il primo è stato uno studio pilota che ha avuto lo scopo di trovare la tipologia di stimolazione più adatta e sicura per questi soggetti ed è stato utilizzato un protocollo di allenamento, con la combinazione di elettromiostimolazione, già proposto dall'azienda Miha Bodytec. Dall'analisi della letteratura e considerando le necessità dei pazienti in termini di sintomatologia fisica e neurologica, abbiamo pensato che applicare le WB-EMS potesse garantire una maggiore aderenza a protocolli di attività fisica, in quanto è comune osservare drop-out a poco tempo dall'inizio dell'allenamento.

4.2. Introduzione

La malattia di Parkinson (PD) è la disabilità in più rapida crescita, che porta all'ospedalizzazione e alla morte (Dorsey et al., 2018). La PD è una malattia cronica neurodegenerativa caratterizzata da disturbi motori e non-motori (Gronek et al., 2021). I principali danni motori visibili includono difficoltà nell'iniziare i movimenti (acinesia) e lentezza e difficoltà nel mantenere i movimenti (bradicinesia), instabilità posturale e dell'andatura, rigidità muscolare e tremori (Postuma et al., 2015). Inoltre, i sintomi non motori, come il dolore, il deterioramento cognitivo e la demenza,

l'apatia e la fatica generale (Pluck, 2002; Friedman et al., 2007), colpiscono la maggior parte dei pazienti. L'insorgenza della malattia è dovuta principalmente alla rottura dei circuiti nigro-striato-talamo-corticali e al deficit catecolaminergico, in particolare del neurotrasmettitore dopamina (Calabresi et al., 2006). I fattori dello stile di vita influenzano lo sviluppo del PD (Garcia-Ruiz, 2017), per esempio, l'allattamento a casa porta al deterioramento cognitivo e al deficit motorio non dopaminergico (Aarsland et al., 2000). Al contrario, l'attività fisica (PA) potrebbe prevenire la perdita di neuroni dopaminergici e migliorare le connessioni sinaptiche, upregolando i livelli di fattore neurotrofico e contrastando di conseguenza la discinesia Lauzé et al., 2016; Portugal et al., 2013)

Il programma di esercizi solitamente proposto ai pazienti di Parkinson comprende un'attività aerobica di moderata intensità per mantenere la forma fisica cardiorespiratoria dei pazienti e l'efficienza funzionale del cervello a riposo, come la connettività funzionale tra la rete frontoparietale e la rete fronto-esecutiva (Voss et al., 2010; Iuliano et al., 2017).

Tuttavia, l'allenamento di resistenza di grandi gruppi muscolari migliora i sintomi motori come il tasso di sviluppo della forza, l'equilibrio, il tempo di reazione e la velocità dell'andatura (Schlenstedt et al., 2015). Studi precedenti hanno evidenziato che l'allenamento di resistenza migliora anche i sintomi non motori come l'attenzione e la memoria di lavoro (David et al., 2015), minimizzando le complicazioni secondarie della malattia di Parkinson come l'ipereccitabilità dei neuroni striatali dopo la deplezione di dopamina (Shih et al., 2019), l'osteoporosi e la sarcopenia. Questo tipo di esercizio promuove il benessere (Kemmler et al., 2012) e risulta essere più adatto ai pazienti di Parkinson (Ramazzina et al., 2017; Tidman and Skotzke, 2017) rispetto ad altre modalità di esercizio. Nonostante tutto questo, i pazienti di Parkinson tendono a condurre uno stile di vita sedentario, a causa di limitazioni sia fisiche che mentali (Van Nimwegen et al., 2011). I pazienti con Parkinson possono essere scarsamente motivati a impegnarsi in abitudini salutari, compresa la PA, in quanto presenta difficoltà a cambiare il loro comportamento sedentario. Pertanto, la motivazione sarebbe un fattore importante da stimolare nell'impegno nella PA, promuovendo l'aderenza e uno stile di vita più attivo fisicamente (Krishnamurthi et al., 2020). L'intervento precoce è cruciale per mantenere le prestazioni fisiche e i programmi di PA devono essere continui per garantire i benefici dell'esercizio (LaHue et al., 2016).

Tuttavia, è obbligatorio identificare quale tipo di PA potrebbe essere più sicuro e adatto ai pazienti con PD. Mc Gill (2014) ha recentemente proposto la danza come forma alternativa di PA per i pazienti con PD, migliorando l'equilibrio, le variabili dell'andatura e la depressione e l'ansia,

comuni nella PD. Schenkman (2018) ha mostrato risultati promettenti con l'esercizio ad alta intensità sul tapis roulant. L'uso della tecnologia per migliorare e potenziare l'effetto del PA è ampiamente diffuso sia nei programmi di prevenzione che di riabilitazione (Pistone et al., 2016).

L'elettromiostimolazione del corpo intero (WB-EMS) sembra una modalità di esercizio promettente per le persone incapaci o scarsamente motivate all'esercizio convenzionale (De Oliveira et al., 2021). La WB-EMS induce una miostimolazione elettrica globale del corpo, attivando fino a 8-10 gruppi muscolari diversi in modo sincrono, e permette di esercitare una data catena cinetica mentre si eseguono simultaneamente movimenti funzionali durante la stimolazione. Infine, la WB-EMS è una metodologia di allenamento che fa risparmiare tempo, soprattutto per le persone che non hanno la possibilità di eseguire un esercizio fisico prolungato (Kemmler et al., 2016). In effetti, questo tipo di regime potrebbe essere sia di risparmio di tempo che meno debilitante della PA tradizionale, e di conseguenza ben tollerato, producendo aderenza tra i soggetti sedentari. È noto che la PA deve essere continua per garantire la sua efficacia. I soggetti non sottoposti a questo tipo di intervento potrebbero mostrare un grande impegno, percependo rapidi miglioramenti (Pano-Rodriguez et al., 2020) che portano ad un aumento dell'autoefficacia. Come strumento di allenamento, il WB-EMS è ortopedicamente delicato e offre buoni risultati sulla composizione corporea, miglioramenti della forza attraverso adattamenti neuromuscolari, coordinazione intermuscolare e dimensioni muscolari, e aumenta il consumo energetico (Watanabe et al., 2019). Questi miglioramenti potrebbero essere ottimali per preservare l'indipendenza. Inoltre, l'esercizio sovrapposto WB-EMS ha dimostrato di modulare le proteine del siero, come la neurotrofina brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Wahl et al., 2015), che sono stati indicati come potenziali biomarcatori relativi alla progressione della malattia e la gravità della compromissione motoria nei pazienti PD (Huang et al., 2018). Nessuno studio precedente su pazienti con malattia neurologica ha applicato WB-EMS, che può essere funzionale nel contrastare l'inattività fisica secondaria alla disabilità associata (Van Nimwegen et al., 2011).

Pertanto, l'obiettivo primario di questo studio è stato quello di valutare gli effetti acuti di un esercizio di WB-EMS sulle prestazioni fisiche e sui livelli sierici di fattori neurotrofici nei pazienti con Parkinson. Il secondo obiettivo era quello di valutare se il protocollo di WB-EMS combinato con esercizi di forza volontari, proposto in questo studio, potesse essere sicuro e adatto ai pazienti di Parkinson, considerando le loro caratteristiche e il loro grado di soddisfazione, il che garantirà la loro aderenza.

La WB-EMS non è stata applicata in precedenza a un programma di esercizi per pazienti con PD. L'iniziativa di sviluppare protocolli di allenamento WB-EMS è stata motivata dalla consapevolezza che i pazienti con Parkinson non sono in grado o non vogliono eseguire programmi di esercizio tradizionali, e l'allenamento WB-EMS potrebbe essere una strategia compensativa non farmacologica per ritardare la progressione del declino delle funzioni fisiche e cognitive, promuovendo una qualità di vita accettabile (Tosserams et al., 2020).

4.3. Materiali e metodi

4.3.1. Disegno dello studio

Il presente studio è stato progettato come uno studio controllato randomizzato in cui i soggetti hanno ricevuto due trattamenti, volti a valutare gli effetti acuti dell'intervento WB-EMS, rispetto allo stesso protocollo senza WB-EMS, sulle prestazioni fisiche e sui livelli di fattori neurotrofici in soggetti con PD.

4.3.2. Partecipanti

Dodici soggetti (età $72,60 \pm 6,82$) sono stati reclutati per il presente studio da centri comunitari per anziani di Campobasso. Due soggetti si sono ritirati prima della seconda fase dell'intervento. Le caratteristiche del campione sono mostrate nella tabella 4.

Tabella 4. Caratteristiche del campione (Fiorilli et al., 2020).

Variables	Mean \pm SD
Age	72.60 ± 6.82
Gender (<i>n</i>)	
Males	6
Females	4
Hoehn and Yahr scale	1.60 ± 0.52
UPDRS score	40.20 ± 20.67
MMSE score	26.60 ± 1.26
PASE score	69.31 ± 47.86

Per essere eleggibili per lo studio, i partecipanti dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione: (a) età compresa tra i 50 e gli 80 anni; (b) diagnosi clinica di PD nello stadio da 1 (lieve) a 3 (moderato) valutato dalla scala Hoehn e Yahr (Goetz et al., 2004; Hoen and Yahr, 1998); (c) nessuna frequenza di programmi di esercizio fisico. I criteri di esclusione includevano i

seguenti: (a) punteggio del mini-mental state examination (MMSE) inferiore a 24 (Folstein et al., 1975); (b) incapacità di camminare per 6 minuti senza assistenza (Enright, 2003); (c) presenza di una condizione medica che influenza le funzioni cognitive e/o motorie; (d) presenza di qualsiasi controindicazione all'uso dell'EMS. I partecipanti hanno mantenuto il loro trattamento farmacologico (levodopa).

Dopo un'attenta spiegazione degli obiettivi, dei rischi e dei benefici dello studio, tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato scritto. Lo studio è stato progettato e condotto in conformità con la Dichiarazione di Helsinki e approvato dal Comitato Bioetico "Azienda Sanitaria Regionale Moli-se-ASREM" (114847/2020).

4.3.3. Procedure sperimentali

I partecipanti hanno eseguito prima l'intervento WB-EMS e, dopo quattro settimane, il protocollo è stato ripetuto senza WB-EMS, come condizione di controllo. Tutti i partecipanti hanno partecipato agli interventi alla stessa ora del giorno. Un periodo di wash-out di quattro settimane è stato pianificato tra i due interventi per ridurre possibili effetti di carry-over.

Una settimana prima del primo intervento è stata eseguita una sessione di familiarizzazione. Questa sessione aveva lo scopo di imparare gli schemi di movimento (cioè le tecniche corrette degli esercizi) e di adattare i partecipanti agli stimoli elettrici. Ogni gruppo muscolare è stato sollecitato a intervalli per determinare il massimo soggettivo di ogni partecipante. Il massimo è stato determinato dal punto in cui ogni persona ha dato il segnale di interrompere lo sforzo, come il massimo grado di sforzo che può essere facilmente tollerato. L'ultimo valore di stimolazione emesso dall'EMS è stato registrato (Pano-Rodriguez et al., 2019). Il diagramma della procedura sperimentale è mostrato nella Figura 6.

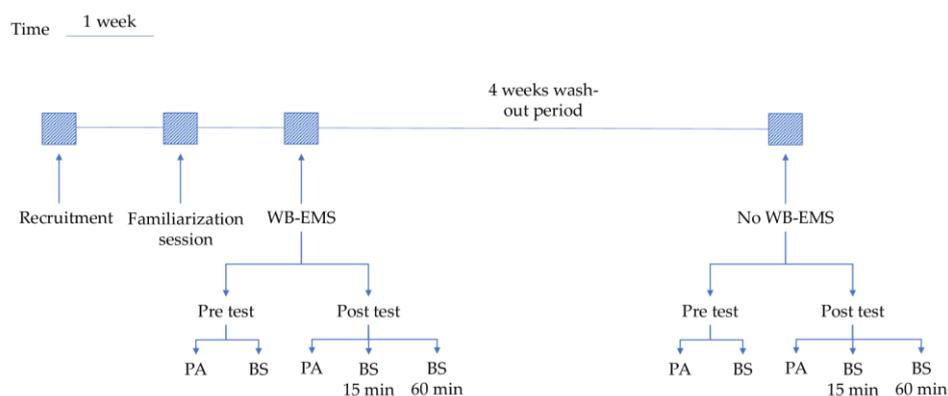


Figura 6. Schema della procedura sperimentale. PA: valutazione fisica; BS: raccolta di campioni di sangue (Fiorilli et al., 2020).

In entrambi gli interventi WB-EMS e no WB-EMS, i partecipanti sono stati sottoposti a una sessione di allenamento di 20 minuti guidata e supervisionata da un istruttore certificato. La sessione di allenamento consisteva nei seguenti 5 esercizi di forza volontari: mezzo squat, squat completo, piegato, rotazione del nucleo e crunch (Figura 7). Dopo 5 minuti di riscaldamento, ogni esercizio è stato eseguito per 3 minuti, durante i quali i partecipanti dovevano eseguire alternativamente 4 s di contrazione isometrica e 4 s di riposo statico.



Figura 7. Sessione di allenamento. (a) Mezzo squat; (b) squat completo; (c) bent over; (d) core rotation; (e) crunch (Fiorilli et al., 2020).

Nell'intervento WB-EMS, la sessione di allenamento di 20 minuti ha combinato i 5 esercizi di forza volontari con un'applicazione WB-EMS sovrapposta e supervisionata, usando il protocollo (stimolazione rettangolare a 75-85 Hz, 350 μ s, 4 s stimolazione/4 s riposo) raccomandato da Kemmler e colleghi (2018). I partecipanti sono stati incoraggiati ad eseguire con sforzo massimo durante l'impulso WB-EMS. Al fine di generare un'intensità sufficiente ma tollerabile, l'impulso WB-EMS è stato monitorato secondo il Borg's rating of perceived exertion (RPE), una scala di 6-20 punti (Borg and Noble, 1974), in cui un punteggio <11 è considerato uno sforzo pari a un esercizio a bassa intensità, 12-13 a un esercizio moderato, e 14-17 a un esercizio vigoroso (Garber et al., 2011). L'intensità della corrente è stata adattata individualmente per ogni regione durante la sessione di familiarizzazione a un RPE di 13-16 su 20 (da moderato a vigoroso).

4.3.4. Strumentazione

L'applicazione WB-EMS è stata condotta con l'attrezzatura Miha Bodytec (GmbH, Augsburg, Germania). Miha Bodytec consiste in un'unità centrale che attiva 10 canali con una stimolazione rettangolare a due fasi di corrente asimmetrica, e un gilet di trattamento dove sono posizionati gli elettrodi (bio-jacket). Questa apparecchiatura attiva simultaneamente 10 gruppi muscolari principali, compresi i muscoli della parte superiore delle braccia, del petto, delle spalle, della parte superiore e inferiore della schiena, degli addominali, dei glutei, della regione dei fianchi, compresi gli arti superiori. Miha Bodytec EMS fornisce una completa libertà di movimento per i partecipanti.

4.3.5. Valutazione di base

Per la valutazione di base, sono state raccolte le seguenti informazioni: dati socio-demografici come età e sesso, la scala di attività fisica per gli anziani (PASE), e la scala di valutazione unificata della malattia di Parkinson (UPDRS).

Successivamente è stato valutato il livello di forma fisica e i livelli di fattori neurotrofici prima e dopo l'intervento. Dopo la sessione di familiarizzazione al basale, i partecipanti sono stati sottoposti a 2 sessioni di test. Prima dell'intervento, sono stati somministrati test fisici e sono stati raccolti campioni di sangue prima del protocollo, dopo 15 min e dopo 60 min.

Valutazione della forma fisica

Il livello generale di PA è stato valutato con il PASE (Washburn et al., 1999). Si tratta di un questionario composto da 12 voci autosomministrate, che valuta la PA effettuata nella settimana precedente durante il tempo libero, le attività domestiche e lavorative. Un punteggio, che va da 0 a 793, con punteggi più alti che indicano una maggiore PA è stato firmato (Logan et al., 2013). Il punteggio ottenuto dai partecipanti era $69,31 \pm 47,86$, il che significa un basso livello di PA.

Per valutare le funzioni fisiche, sono stati somministrati i seguenti test: Tremore del braccio per valutare il grado di tremore legato al Parkinson, valutato tramite app (Accelerometer Data Recorder) sul braccio con un livello maggiore di tremore. La resistenza dell'arto superiore è stata valutata chiedendo ai partecipanti di eseguire il numero massimo di ripetizioni dell'esercizio di curl del braccio con un peso di 3 kg per gli uomini e 2 kg per le donne (Liu et al., 2017). La forza dell'arto superiore è stata valutata utilizzando il test di forza della presa delle mani (Massy-Westropp et al., 2011). I test di arm curl e handgrip sono stati eseguiti bilateralmente.

Inoltre, i partecipanti sono stati sottoposti ai seguenti test: sit-to-stand test per la resistenza degli arti inferiori (Jones et al., 1999), 8 feet up and go per l'equilibrio dinamico e le capacità di agilità (Cancela et al., 2013), test del cammino di sei minuti per valutare l'idoneità cardiorespiratoria (Enright, 2003), chair sit and reach test per la flessibilità del tronco e degli arti inferiori (Jones et al., 1998), soda pop test per la coordinazione oculo-manuale (Clark, 1989), Tinetti balance and gait test per l'equilibrio, il cammino e la valutazione del rischio di caduta (Tinetti et al., 1986).

Livelli sierici di fattori neurotrofici

Il fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF) o il fattore di crescita dei nervi (NGF) sono stati indicati come potenziali biomarcatori sierici che correlano con la gravità della malattia, le prestazioni motorie e cognitive nei pazienti con PD (Huang et al., 2021). Per altri fattori di crescita, come il fattore di crescita dei fibroblasti-21 (FGF-21), nonostante siano stati identificati come biomarcatori sierici potenzialmente rilevanti, finora sono stati prodotti dati controversi (Davis et al., 2019). Nel presente lavoro, sono stati utilizzati ELISA per valutare le possibili variazioni sieriche di questi fattori di crescita dopo una WB-EMS acuta. I campioni di sangue sono stati raccolti dalla vena antecubitale prima dell'allenamento e 15 e 60 minuti dopo l'allenamento. Il sangue è stato centrifugato (Eppendorf Centrifuge 5804) per 15 minuti a 1200 di forza centrifuga relativa. Il surnatante è stato decantato e conservato in un congelatore a -80 °C fino all'analisi. Il campione è stato analizzato presso l'Istituto di Farmacologia Traslazionale, Consiglio Nazionale delle Ricerche (IFT-CNR) a Roma. Il contenuto totale di BDNF è stato misurato con Duoset® human BDNF ELISA (cat. DY248 R&D Systems), secondo le istruzioni del produttore. Il contenuto totale di FGF-21 è stato misurato con Duoset® human FGF-21 ELISA (cat. DY2539 R&D Systems), secondo le istruzioni del produttore. Il contenuto totale di proNGF e mNGF è stato misurato secondo Soligo et al. (Soligo et al., 2015).

4.2.6. Analisi statistica

Tutte le analisi statistiche dettagliate nel seguente paragrafo sono state effettuate utilizzando il software Statistica (v.10, StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA). Tutte le variabili sono state testate per la distribuzione normale utilizzando il test di Shapiro-Wilk. Per tutti i test statistici il livello α è stato fissato a 0,05.

Le variabili fisiche (tremore, sit-to-stand test, soda pop, 8 feet up and go, six minutes walking test, chair sit and reach test, Tinetti balance and gait test) hanno mostrato una distribuzione normale e sono state sottoposte a RM-ANOVA separate con in-tervento (WB-EMS vs no WB-EMS) e tempo (pre- vs post-intervento) come fattori ripetuti. Braccio curl e test di presa della mano sono stati

sottoposti a RM-ANOVA separata con in-tervento, tempo e lato (destra vs sinistra). I fattori neurotrofici (BDNF, FGF21, proNGF, mNGF) sono stati sottoposti a RM-ANOVA separati con intervento e tempo come fattori ripetuti. I fattori neurotrofici sono stati analizzati anche in termini di incrementi sia in assoluto (Δ BDNF, Δ FGF21, Δ proNGF, Δ mNGF) che in percentuale della valutazione iniziale (%BDNF, %FGF21, %proNGF, %mNGF). Il test post-hoc della differenza onestamente significativa di Tukey è stato usato dove appropriato.

Le scale di valutazione della malattia (UPRDS e PASE) non hanno mostrato una distribuzione normale e gli effetti dell'intervento sono stati verificati mediante un test non parametrico (il test a coppie Wilcoxon).

4.4. Risultati

4.4.1. Performance fisiche

La RM-ANOVA eseguita su tremore, 8 piedi su e vai, il test di camminata di sei minuti e il test di equilibrio e andatura di Tinetti non ha mostrato alcun effetto significativo di in-tervento, tempo o effetti di interazione (tutti $p > 0,05$). Un effetto significativo del tempo è stato osservato per il test di seduta e di allungamento della sedia. Il test post-hoc di Tukey ha mostrato che i partecipanti nella valutazione pre-intervento avevano una maggiore flessibilità rispetto alla valutazione post-intervento ($p = 0,018$).

La RM-ANOVA ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo per il test sit-to-stand. Il test post-hoc ha mostrato che nella condizione post-WB-EMS, i partecipanti sono stati in grado di eseguire più ripetizioni rispetto alla condizione post-no WB-EMS ($p = 0,0008$) e nella condizione pre-WB-EMS ($p < 0,001$).

Allo stesso modo, una significativa interazione intervento-tempo è stata osservata per il test soda pop. Il post-hoc ha mostrato che nella condizione post-WB-EMS, i partecipanti sono stati più veloci che nella condizione post-no WB-EMS ($p = 0,0068$). Inoltre, i partecipanti erano più lenti nella condizione post-no WB-EMS che nella condizione pre-WB-EMS ($p = 0,033$).

La RM-ANOVA eseguita sul test di curl braccio ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo e il test post-hoc ha rivelato che nella condizione post-WB-EMS, i partecipanti sono stati in grado di eseguire un maggior numero di ripetizioni rispetto al post-no WB-EMS ($p = 0,008$) e nel pre-WB-EMS ($p = 0,0007$). Nessun effetto significativo del lato del corpo è stato osservato per arm curl ($F = 2.42$; $p = 0.15$).

Inoltre, per il test di handgrip la RM-ANOVA ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo. Il post-hoc di Tukey ha mostrato che dopo l'intervento WB-EMS (post-WB-EMS), i partecipanti erano più forti rispetto alla condizione di controllo (post-no WB-EMS; $p = 0,009$) e prima del trattamento WB-EMS (pre-WB-EMS; $p = 0,036$). Un effetto significativo del lato è stato osservato per questa variabile, con il braccio destro più forte di quello sinistro ($p = 0,048$) (Figura 8). I risultati della valutazione fisica sono riportati nella tabella 5.

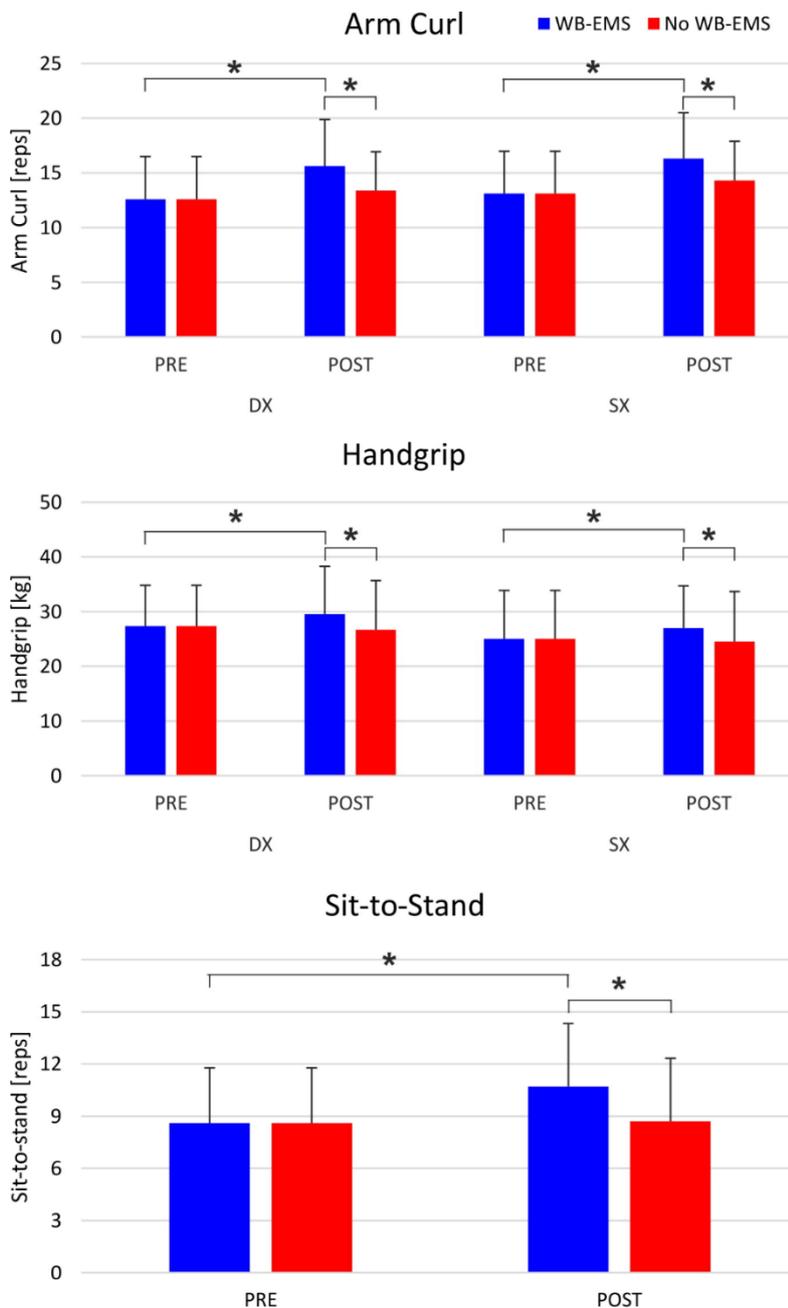


Figura 8. Prestazioni fisiche: confronto tra l'intervento WB-EMS e nessun intervento WB-EMS in-tervento e pre- e post-valutazione. * $p < 0,05$; reps: ripetizioni; kg: chilogrammi. (Fiorilli et al., 2020).

Tabella 5. Variabili di valutazione fisica. Dati come media e DS. (Fiorilli et al., 2020).

	WB-EMS		No WB-EMS		Intervention	Time	Interaction
	Pre	Post	Pre	Post	F (1,9)	F (1,9)	F (1,9)
Tremor (Hz)	48.8 (0.7)	48.3 (0.6)	48.8 (0.7)	48.4 (0.6)	F < 1; <i>p</i> = 0.86	F = 3.3; <i>p</i> = 0.10	F < 1; <i>p</i> = 0.86
Sit-To-Stand (reps) *, §, #	8.6 (3.2)	10.7 (3.6)	8.6 (3.2)	8.7 (3.6)	F = 20.1; <i>p</i> < 0.001	F = 12.9; <i>p</i> < 0.01	F = 20.0; <i>p</i> < 0.01
Soda pop (s) *, #	12.2 (5.4)	11.5 (6.5)	12.2 (5.4)	14.4 (8.5)	F = 10.1; <i>p</i> = 0.011	F < 1; <i>p</i> = 0.35	F = 10.1; <i>p</i> = 0.011
8-feet up & go (s)	16.5 (12.0)	14.2 (11.5)	16.5 (12.0)	17.5 (14.3)	F = 1.24; <i>p</i> = 0.29	F = 0.15; <i>p</i> = 0.69	F = 1.24; <i>p</i> = 0.29
6-mwt (m)	308.7 (132.0)	310.2 (131.8)	308.7 (132.0)	295.2 (128.5)	F < 1; <i>p</i> = 0.39	F < 1; <i>p</i> = 0.66	F < 1; <i>p</i> = 0.39
Chair sit and Reach (cm)	-6.1 (8.0)	-3.4 (8.6)	-6.1 (8.0)	-4.9 (8.8)	F < 1; <i>p</i> = 0.56	F = 8.3; <i>p</i> = 0.0181	F < 1; <i>p</i> = 0.56
Tinetti (score)	24.0 (4.2)	25.0 (3.7)	24.0 (4.2)	23.8 (4.6)	F = 3.8; <i>p</i> = 0.081	F = 1.0; <i>p</i> = 0.34	F = 3.8; <i>p</i> = 0.081
Arm Curl (reps) *, §, #	12.8 (3.8)	15.9 (4.1)	12.8 (3.8)	13.8 (3.5)	F = 9.5; <i>p</i> = 0.0127	F = 5.4; <i>p</i> = 0.0440	F = 9.5; <i>p</i> = 0.013
Handgrip (kg) *, #	26.2 (8.0)	28.3 (8.1)	26.2 (8.0)	25.6 (8.8)	F = 9.0; <i>p</i> = 0.0145	F = 1.4; <i>p</i> = 0.26	F = 9.0; <i>p</i> = 0.014

* denota un effetto significativo del trattamento; § denota un effetto significativo del tempo; # denota un'interazione significativa; Hz: Hertz; reps: ripetizioni; s: secondi; m: metri; cm: centimetri; kg: chilogrammi.

4.4.2. Fattori neurotrofici

La RM-ANOVA non ha mostrato alcun effetto significativo di intervento e tempo per BDNF, FGF21, e mNFG. Al contrario, un intervento significativo da interazione tempo è stato osservato per proNFG, con livelli sierici più elevati nel WB-EMS che nel no-WB-EMS alla valutazione pre-intervento (*p* = 0.0011 nel post-hoc comparison) e 60 min post-intervento (*p* = 0.0163). Nella

condizione WB-EMS, livelli più bassi di proNGF sono stati osservati 15 min dopo l'intervento WB-EMS rispetto ai valori di base ($p = 0.0315$) (Figura 9).

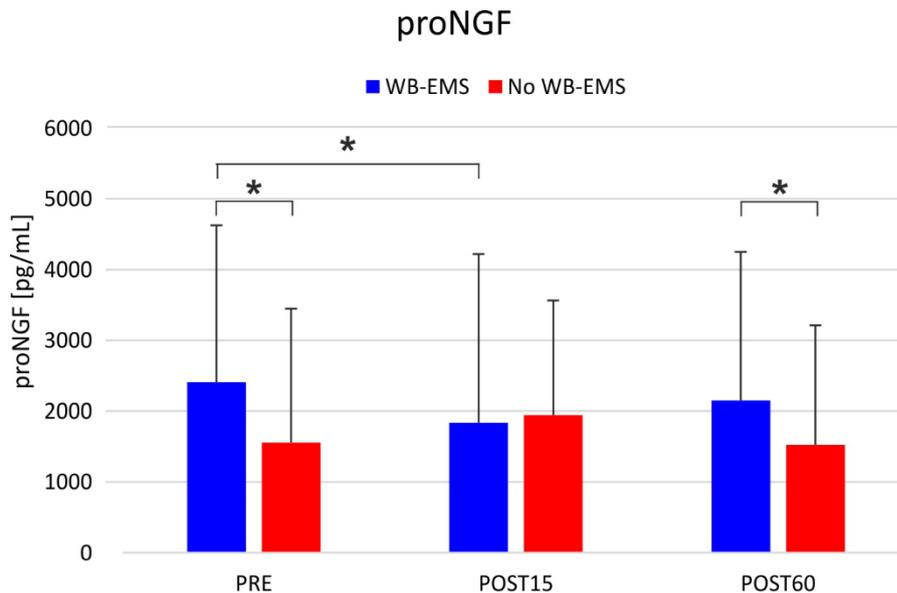


Figura 9. Livello di variazioni di proNGF: confronto tra l'intervento WB-EMS e nessun intervento WB-EMS e pre- e post-valutazione (15 e 60 min). * $p < 0,05$; pg/mL: picogrammi/millimetri. (Fiorilli et al., 2020).

Quando le variazioni dei fattori neurotrofici sono state espresse come percentuale del valore pre-intervento (valutazione pre-intervento), non vi era alcun effetto di inter-intervento o tempo e non sono emerse interazioni significative per %BDNF, %FGF21, %proNGF, e %mNGF. Al contrario, quando sono stati considerati gli interventi assoluti pre e post, è emersa una significativa interazione intervento-tempo per Δ proNGF con decrementi (-574,6 pg/mL) osservati 15 min dopo il trattamento WB-EMS, mentre nel no-WB-EMS dopo 15 min è stato osservato un aumento (390,2 pg/mL; $p < 0,001$). Sessanta minuti dopo il trattamento, WB-EMS e no WB-EMS hanno mostrato variazioni comparabili (WB-EMS: -256,9 pg/mL vs. no WB-EMS: -30,0 pg/mL). Inoltre, un effetto significativo di intervento è stato osservato per Δ proNGF, con WB-EMS mostrando un decremento (WB-EMS: -415.9 pg/mL) di questo fattore neurotrofico rispetto alla condizione non WB-EMS dove un aumento potrebbe essere osservato (CON: 180.1 pg/mL; $p = 0.028$). L'analisi degli incrementi non ha mostrato effetti principali significativi o interazioni. I risultati dei fattori neurotrofici sono riportati nelle tabelle 6 e 7.

Tabella 6. Variazioni dei fattori neurotrofico. Dati come media e SD. (Fiorilli et al.,2020).

	WB-EMS			no WB-EMS			Intervention	Time	Interaction
	Pre	Post15	Post60	Pre	Post15	Post60	F (1,9)	F (2,18)	F (2,18)
BDNF (pg/mL)	2243.5 (1050.7)	2247.7 (962.0)	2353.8 (1144.0)	2317.7 (980.1)	2448.1 (949.1)	2419.8 (949.1)	F = 1.41; <i>p</i> = 0.264	F = 2.47; <i>p</i> = 0.112	F = 1.10; <i>p</i> = 0.352
FGF21 (pg/mL)	715.6 (477.5)	663.9 (427.0)	688.0 (379.7)	697.6 (383.5)	972.1 (648.9)	776.8 (440.2)	F = 2.27; <i>p</i> = 0.165	F = 1.14; <i>p</i> = 0.339	F = 3.14; <i>p</i> = 0.067
proNFG (pg/mL) *, #	2408.2 (2219.2)	1833.5 (2388.0)	2151.2 (2099.9)	1552.6 (1896.2)	1942.8 (1622.6)	1522.6 (1689.8)	F = 4.1; <i>p</i> = 0.074	F < 1; <i>p</i> = 0.503	F = 8.9; <i>p</i> = 0.002
mNFG (pg/mL)	78.0 (485.3)	42.8 (439.2)	33.4 (400.5)	43.2 (426.5)	-18.3 (239.2)	-2.9 (279.2)	F < 1; <i>p</i> = 0.344	F = 1.30; <i>p</i> = 0.296	F < 1; <i>p</i> = 0.828

* denota un effetto significativo del trattamento; # denota un'interazione significativa; pg/mL: picogrammi/millimetri.

Tabella 7. Confronto dei fattori neurotrofici (punteggi Δ). I dati sono riportati come media e SD e percentuale (%). (Fiorilli et al., 2020).

	WB-EMS		no WB-EMS		Intervention	Time	Interaction
	Post15	Post60	Post15	Post60	F (1,9)	F (1,9)	F (1,9)
Δ BDNF (pg/mL)	4.1 (220.8)	110.3 (207.3)	130.4 (223.2)	102.1 (209.9)	F < 1; <i>p</i> = 0.466	F < 1; <i>p</i> = 0.438	F = 1.44; <i>p</i> = 0.260
Δ FGF21 (pg/mL)	-51.6 (126.2)	-27.5 (261.1)	274.5 (538.4)	79.2 (354.9)	F = 3.1; <i>p</i> = 0.111	F = 3.3; <i>p</i> = 0.100	F = 3.2; <i>p</i> = 0.107
Δ proNGF (pg/mL) *,#	-574.6 (569.1)	-256.9 (721.1)	390.2 (559.5)	-30.0 (385.0)	F = 6.8; <i>p</i> = 0.027	F < 1; <i>p</i> = 0.631	F = 12.2; <i>p</i> = 0.007
Δ mNGF (pg/mL)	-35.1 (59.8)	-44.5 (102.8)	-61.5 (218.2)	-46.1 (173.1)	F < 1; <i>p</i> = 0.786	F < 1; <i>p</i> = 0.835	F < 1; <i>p</i> = 0.504
%BDNF (%)	2.7 (12.5)	2.1 (16.9)	7.9 (10.8)	5.4 (18.1)	F < 1; <i>p</i> = 0.462	F < 1; <i>p</i> = 0.704	F < 1; <i>p</i> = 0.759
%FGF21 (%)	-6.7 (21.6)	6.0 (43.5)	47.2 (94.4)	20.2 (54.1)	F = 3.4; <i>p</i> = 0.096	F < 1; <i>p</i> = 0.389	F = 3.4; <i>p</i> = 0.098
%proNGF (%)	-39.0 (33.3)	16.0 (84.1)	225.2 (532.6)	-16.2 (214.4)	F = 1.1; <i>p</i> = 0.312	F = 3.4; <i>p</i> = 0.096	F = 4.1; <i>p</i> = 0.074
%mNGF (%)	-13.5 (32.6)	-23.2 (52.8)	35.1 (103.4)	21.0 (165.8)	F = 1.2; <i>p</i> = 0.291	F < 1; <i>p</i> = 0.623	F < 1; <i>p</i> = 0.905

* denota un effetto significativo del trattamento; # denota un'interazione significativa; pg/mL: picogrammi/millimetri.

Il test di coppia Wilcoxon abbinato non ha mostrato alcuna differenza tra le condizioni WB-EMS e non WB-EMS in UPDRS totale (*p* = 0.123).

4.5. Discussione

Questo è il primo studio in cui la WB-EMS è stata applicata a pazienti neurodegenerativi come i pazienti PD.

Dopo una singola sessione di WB-EMS, sono stati osservati miglioramenti significativi nella forza degli arti superiori e inferiori (braccio curl e handgrip, sit-to-stand), mentre nessun risultato

significativo è stato osservato per il test 8 feet up and go. Probabilmente, per quest'ultimo, lo schema discontinuo di questo esercizio (in piedi, camminare, girarsi, sedersi) potrebbe aver spiegato i risultati non significativi, poiché rappresenta una grande sfida legata alla malattia di PD a livello dei gangli della base (Lauzé et al., 2016). Ci si aspettava che un aumento della resistenza e della forza muscolare potesse essere molto promettente, soprattutto se considerato nel quadro di un allenamento cronico. Infatti, il rafforzamento muscolare, promuovendo l'ipertrofia muscolare, contrasta la perdita di massa muscolare, comunemente osservata negli anziani, che porta a un peggioramento della forza, della mobilità e della postura (Cruz-Jentoft et al., 2019).

Non sono stati trovati risultati significativi nel test del cammino di sei minuti e nel test di equilibrio e andatura di Tinetti, dopo una singola sessione sia con che senza l'applicazione del WB-EMS. La deambulazione è particolarmente colpita nella PD e il suo declino precede altre limitazioni dipendenti dall'andatura (Rawson et al., 2020). Uno studio precedente ha dimostrato che i fattori psicologici, come la bassa autoefficacia e la bassa aspettativa di successo, sono i fattori primari che limitano la deambulazione più dei problemi motori (Ellis et al., 2013). Inoltre, non si può escludere che la fatica possa aver compromesso il risultato di questi test. La fatica è il sintomo non motorio più comune, fortemente sperimentato dal 33-58% dei pazienti con PD (Miwa, 2011; Herlofson and Kluger, 2017), e studi precedenti hanno dimostrato che i cambiamenti nei livelli di PA non hanno ridotto la percezione della fatica nei pazienti con PD (Lin et al., 2021; Winward et al., 2012). Inoltre, la paura delle cadute potrebbe aumentare le difficoltà di andatura e di cammino (Lindholm et al., 2014). Dalle considerazioni di cui sopra, abbiamo sostenuto che un esteso allenamento della forza orientato al core e agli arti inferiori, eseguito prima di qualsiasi tipo di esercizio, potrebbe facilitare migliori prestazioni (Fiorilli et al., 2017) e cambiamenti nella fiducia in se stessi (Rejeski et al., 2005).

Considerando che, nelle prime fasi del PD, si sono verificate anomalie legate alla bradicinesia (Warabi et al., 1986) nella coordinazione oculo-manuale e nel tempo di reazione prolungato (Yanagisawa et al., 1989), ci si aspettava che il livello di coordinazione oculo-manuale non migliorasse dopo un esercizio convenzionale. Tuttavia, nel test soda pop, un test utilizzato per valutare la destrezza manuale e la coordinazione oculo-manuale, le differenze significative osservate tra WB-EMS e nessuna condizione WB-EMS erano probabilmente dovute all'adattamento neurale osservato in altri studi dopo l'esposizione a WB-EMS (Gondin et al., 2006; Maffioletti et al., 2000). Di conseguenza, si può ipotizzare che la WB-EMS possa influenzare positivamente il tempo di reazione dei partecipanti. Ulteriori studi potrebbero verificare e confermare questa ipotesi.

La valutazione del sedersi e del raggiungere la sedia ha mostrato un peggioramento in entrambe le condizioni di intervento. Potrebbe essere spiegato dal miglioramento del tono muscolare che si verifica dopo una sessione di resistenza, o da uno sforzo muscolare non ottimale (Saldiran et al., 2021). Per ulteriori applicazioni potrebbe essere consigliabile programmare una sessione di flessibilità alla fine dell'allenamento di resistenza WB-EMS.

Le misure di risultato relative ai sintomi del tremore non hanno mostrato significativi miglioramenti dopo le due condizioni (WB-EMS e nessuna WB-EMS). Una precedente revisione ha rivelato scarsi effetti di PA sui sintomi clinici del PD. È ampiamente riconosciuto che la forma fisica e la salute generale beneficiano più rapidamente e positivamente dell'intervento di PA rispetto agli altri sintomi clinici del PD (Jankovic, 2008). Un PA persistente e di lunga durata potrebbe garantire effetti maggiori (Iuliano et al., 2019). Inoltre, si potrebbe considerare che i sintomi del PD sono variabili nel tempo, da un giorno all'altro e anche all'interno di un giorno, quindi è possibile che le valutazioni pre e post siano avvenute in momenti brevi e non siano state in grado di catturare la variazione positiva in quei piccoli tempi di misurazione (Zetuský et al., 1985).

In questo studio, abbiamo trovato che una singola sessione di WB-EMS è in grado di modificare significativamente i livelli sierici proNGF solo. La mancanza di effetti registrati per il BDNF, un bi-marcatore sierico nel PD (Chassot et al., 2015) noto anche per essere modulato da terapie fisiche e dall'elettrostimolazione (Xu et al., 2018), può dipendere dal fatto che il trattamento terapeutico sia stato somministrato in una singola somministrazione. Inoltre, il numero relativamente basso di pazienti arruolati costituisce un limite del presente studio, e questo si riflette negli alti valori di deviazione standard ottenuti e riportati nelle tabelle 6 e 7. Ulteriori studi sono in corso per valutare gli effetti dell'esposizione prolungata a WB-EMS sui livelli sierici di BDNF in una coorte di pazienti PD più grande. Inoltre, i nostri dati sembrano confermare che FGF-21 non costituisce un biomarcatore efficace nei pazienti PD (Davis et al., 2019) e che una singola WB-EMS non modula i suoi livelli sierici.

D'altra parte, i nostri dati sembrano confermare la scoperta recentemente riportata sul valore di proNGF come efficace biomarcatore sierico nella PD (Xu et al., 2018). Per quanto riguarda i dati presentati per il proNGF, la sovrapposizione del WB-EMS all'esercizio fisico ha cambiato il segno delle variazioni registrate nel breve intervallo di tempo di 60 min considerato. Questo indica un effetto specifico dell'intervento di miostimolazione, un effetto previsto sulla base di precedenti osservazioni sulla capacità dell'elettrostimolazione muscolare di modulare la quantità di proNGF

nei tessuti (Soligo et al., 2013). Inoltre, i valori di proNGF nel siero dei pazienti di controllo e di quelli trattati con WB-EMS prima delle terapie (pre) differiscono tra loro, essendo i secondi significativamente più alti dei primi. Questa sembra essere un'apparente incongruenza, dato che il periodo di wash-out di un mese tra la sessione di controllo e la sessione WB-EMS è sufficiente per eliminare qualsiasi effetto del semplice esercizio fisico. Questa incongruenza può essere spiegata in due modi. In primo luogo, un effetto dell'aspettativa dei pazienti riguardo alla WB-EMS. È già stato riportato che i livelli sierici di NGF possono essere aumentati dall'aspettativa di una sfida fisica o di un evento stressante, correlato all'aumento del cortisolo nel sangue (Aloe et al., 1994). In secondo luogo, la sessione di familiarizzazione con la terapia WB-EMS, effettuata applicando stimolazioni elettriche alcuni giorni prima della sessione di terapia WB-EMS, ha avuto l'effetto di aumentare i livelli sierici basali di proNGF. Questa ipotesi è supportata da studi precedenti che dimostrano l'efficacia dell'elettrostimolazione a bassa frequenza nel modulare sia l'espressione genica che il contenuto di proteine NGF nei tessuti periferici (Stener-Victorin et al., 2003).

4.5.1. Limitazioni

I risultati di questo studio devono essere visti nel contesto delle seguenti limitazioni:

- Piccolo numero di partecipanti arruolati, con diverse caratteristiche e sintomi di PD;
- I dati raccolti non sono generalizzabili a tutte le diagnosi cliniche dei pazienti con PD, poiché i partecipanti inclusi in questo studio erano nello stadio da lieve (1) a moderato (3) valutato dalla scala Hoehn e Yahr;
- Sono stati valutati gli effetti acuti dell'attività fisica con sovrapposizione di WB-EMS. Ulteriori studi valuteranno gli effetti a lungo termine del protocollo WB-EMS sui pazienti con PD;
- Ulteriori studi confermeranno questi risultati arruolando un numero maggiore di pazienti con PD, al fine di ottenere un risultato statistico più affidabile.

4.6. Conclusioni

I risultati hanno rivelato un impatto positivo del protocollo WB-EMS proposto in questo studio, su diversi parametri di funzionamento fisico, migliorando la forza degli arti superiori e inferiori, la coordinazione oculo-manuale e gli esiti clinici associati alle variazioni indotte da WB-EMS nei livelli sierici di proNGF.

L'applicazione del WB-EMS potrebbe essere una strategia consigliabile per i pazienti di Parkinson per aumentare la loro aderenza ai programmi di PA, dal momento che è una metodologia efficiente in termini di tempo e fattibile per migliorare la loro condizione fisica. Sulla base di queste evidenze preliminari, ulteriori studi su questo argomento saranno impostati per un tempo più lungo (condizione cronica) per confrontare diverse modalità di esercizio fisico combinato con la stimolazione mioelettrica, che sicuramente porta a risultati fruttuosi, sia sugli esiti clinici che sui livelli di biomarcatori sierici nei pazienti con PD.

Concludendo, possiamo affermare che lo stimolo è stato ben tollerato dai pazienti, che hanno riportato una sensazione di benessere immediato in seguito alla seduta di WB-EMS. Questi dati ci hanno spinto ad organizzare il successivo lavoro in cronico. Tuttavia, verificando che i fattori neurotrofici, fortemente correlati con il miglioramento cognitivo, e la capacità di cammino non sono stati particolarmente stimolati, abbiamo deciso di introdurre anche un altro protocollo di allenamento, basato sull'applicazione delle WB-EMS con l'esercizio fisico a moderata intensità.

CAPITOLO 5

5. Studio sperimentale in cronico

5.1. Premessa

Dall'analisi della letteratura scientifica sull'argomento, emerge che l'allenamento prolungato, moderato e regolare stimola un'iperincretione di neurotrofine endogene, come BDNF e FGF-21, riduce della degenerazione dei neuroni selettivi dopaminergici, stimola la sinaptogenesi, migliora l'utilizzazione del glucosio e riduce la neuroinfiammazione. Tuttavia, l'allenamento della resistenza muscolare, come visto dallo studio pilota in acuto, ha portato miglioramento della forza degli arti superiori e inferiori, contrastando probabilmente la sarcopenia in cronico e di conseguenza potrebbe portare ad una riduzione del rischio di cadute; per questo motivo abbiamo strutturato uno studio in cronico andando ad confrontare queste due diverse tipologie di allenamento (endurance e strength) al fine di capire quale di queste possa essere più indicata in questo target di popolazione.

5.2. Materiali e metodi

5.2.1. Disegno dello studio

Il presente studio è stato progettato come uno studio controllato randomizzato in cui i soggetti sono stati divisi in maniera randomizzata in 3 gruppi: Strength Training Group (n=8), Endurance Training Group (n=9) e in un gruppo di controllo (n=8). Lo scopo dello studio è stato quello di valutare gli effetti di 12 settimane di intervento WB-EMS, rispetto ai soggetti che nello stesso periodo di tempo non sono stati sottoposti ad alcun allenamento, sulle prestazioni fisiche e cognitive e sui livelli di fattori neurotrofici in soggetti con PD.

5.2.2. Partecipanti

Venticinque soggetti (età 72.08 ± 6.07) sono stati reclutati per il presente studio. Sono stati assegnati in modo casuale in tre gruppi: Strength Training Group (STG) (età $72,37 \pm 7,40$), Endurance Training Group (ETG) (età $72,89 \pm 2,76$) e gruppo di Controllo (CON) (età $70,87 \pm 7,77$). Quattro soggetti si sono ritirati prima della seconda fase dell'intervento. Le caratteristiche del campione sono mostrate nella tabella 8.

Tabella 8. Caratteristiche del campione

Variables	Mean \pm SD
Strength Training	
Age	72,37 \pm 7,40
Males	7
Females	1
HOEHN AND YAHR Scale	1,87 \pm 0,35
UPDRS score	44,12, \pm 20,48
MMSE score	23,64 \pm 2,63
PASE score	68.21 \pm 39.49
Endurance Training	
Age	72,89 \pm 2,76
Males	5
Females	4
HOEHN AND YAHR Scale	1,39 \pm 0,60
UPDRS score	32,44 \pm 22,27
MMSE score	25,64 \pm 1,48
PASE score	69.35 \pm 45.75
Control	
Age	70,87 \pm 7,77
Males	6
Females	2
HOEHN AND YAHR Scale	2,19 \pm 0,65
UPDRS score	31,75 \pm 13,19
MMSE score	25,57 \pm 2,58
PASE score	67.95 \pm 51.29

I criteri di inclusione sono stati richiesti ai partecipanti per essere eleggibili per lo studio sono stati: (a) età da 50 a 80 anni; (b) diagnosi clinica di PD nello stadio da 1 (lieve) a 3 (moderato) valutato dalla scala Hoehn e Yahr (Goetz et al., 2004; Hoen and Yahr, 1998); (c) nessuna frequenza di programmi di esercizio fisico. I criteri di esclusione sono stati: (a) punteggio del mini-mental state examination (MMSE) inferiore a 24 (Folstein et al., 1975); (b) incapacità di camminare per 6 minuti senza assistenza (Enright, 2003); (c) presenza di una condizione medica che influenza le funzioni cognitive e/o motorie; (d) presenza di qualsiasi controindicazione all'utilizzo dell'EMS. I partecipanti hanno mantenuto il loro trattamento farmacologico (levodopa).

Tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato scritto. Lo studio è stato progettato e condotto in accordo con la Dichiarazione di Helsinki, approvato dal Comitato Bioetico "Azienda Sanitaria Regionale Molise-ASREM" (11487/2020) ed è registrato su clinicaltrials.gov (NCT04878679).

5.2.3. Procedure sperimentali

Una sessione di familiarizzazione è stata eseguita una settimana prima dell'intervento. Questa sessione aveva lo scopo di far apprendere la tecnica corretta degli esercizi e di individuare per ogni settore muscolare l'intensità ottimale di stimolazione per ciascun partecipante. Ogni gruppo muscolare è stato sollecitato a intervalli per determinare il massimo stimolo tollerabile di ogni partecipante. L'ultimo valore di stimolazione emesso dall'EMS è stato registrato (Pano-Rodriguez et al., 2019).

Nel gruppo STG i partecipanti sono stati sottoposti a una sessione di allenamento di 20 minuti che combinava 5 esercizi di forza volontari a un'applicazione WB-EMS superimposta e supervisionata utilizzando il protocollo (stimolazione rettangolare a 85 Hz, 350 μ s, 4 s stimolazione/4 s riposo) raccomandato da Kemmler e colleghi (2018). La sessione di allenamento consisteva nei seguenti 5 esercizi di forza volontari: mezzo squat, squat completo, bent over, rotazione del busto e crunch (Figura 7). Dopo 5 min di riscaldamento, in cui sono stati effettuati gli esercizi programmati senza l'applicazione dell'elettromiostimolazione, ogni esercizio è stato eseguito per 3 min, durante i quali i partecipanti dovevano eseguire alternativamente 4 s di contrazione isometrica e 4 s di riposo statico. Ogni 3 settimane di allenamento, l'istruttore applicava una resistenza maggiore utilizzando anche leggeri sovraccarichi (manubri da 2/3kg). I partecipanti sono stati incoraggiati a eseguire uno sforzo massimale isometrico durante l'impulso WB-EMS. Per generare un'intensità sufficiente ma tollerabile, l'impulso WB-EMS è stato monitorato secondo il Borg's rating of perceived exertion (RPE), una scala di 6-20 punti (Borg and Noble, 1974), sulla quale un punteggio <11 è considerato uno sforzo pari a un esercizio a bassa intensità, 12-13 a un esercizio moderato, e 14-17 a un esercizio vigoroso (Garber et al., 2011). L'intensità della corrente è stata adattata individualmente per ogni regione durante la sessione di familiarizzazione con un RPE di 13-16 su 20 (da moderato a vigoroso).

Il gruppo ETG è stato sottoposti a una sessione di allenamento 20-min che combinava l'utilizzo di un remoergometro ad uno stimolo WB-EMS superimposto e supervisionato (Figura 10), utilizzando il protocollo metabolico (stimolazione rettangolare a 7 Hz, 350 μ s, durata dell'impulso continua) raccomandato dalla casa produttrice Miha Bodytec (Kemmler et al., 2010). L'intensità di questa tipologia di allenamento è stata programmata sulla base della frequenza cardiaca di riserva (HRR) iniziando dal 60%HRR nella prima settimana, incrementando l'intensità del 5% ogni 3 settimane, fino ad arrivare all'80%HRR nella dodicesima settimana.



Figura 10. Sessione di allenamento endurance con remoergometro.

Il gruppo CON ha continuato la sua terapia farmacologica, senza alcun tipo di intervento di allenamento.

5.2.4. Strumentazione

L'applicazione WB-EMS è stata condotta con l'attrezzatura Miha Bodytec (GmbH, Augsburg, Germania). L'apparecchiatura Miha Bodytec consiste in un'unità centrale che attiva 10 canali con una stimolazione rettangolare a due fasi di corrente asimmetrica, e un gilet di trattamento dove sono posizionati gli elettrodi (bio-jacket). Questa apparecchiatura attiva simultaneamente 10 gruppi muscolari principali, compresi i muscoli della parte superiore delle braccia, del petto, delle spalle, della parte superiore e inferiore della schiena, degli addominali, dei glutei, della regione dei fianchi, compresi gli arti superiori. Miha Bodytec fornisce una completa libertà di movimento per i partecipanti. La scelta di questa apparecchiatura è stata pensata in quanto questa ha una connessione via cavo e non è dotata di sistema wireless, che garantisce una corretta conduzione dell'impulso mioelettrico senza la possibilità di perdita degli stessi in seguito alla perdita del segnale wireless. Proprio per questo motivo l'apparecchiatura ha l'autorizzazione di dispositivo elettromedicale.

5.2.5. Valutazione di base

Per la valutazione di base, sono state raccolte le seguenti informazioni: dati socio-demografici come età e sesso, la scala di attività fisica per gli anziani (PASE), la scala di valutazione unificata della malattia di Parkinson (UPDRS) e il Mini-Mental State Examination (MMSE).

Successivamente è stata applicata la batteria di test per valutare il livello di efficienza fisica degli anziani (Senior Fitness Test), le prestazioni cognitive tramite test validati e i livelli sierici di fattori neurotrofici prima e dopo l'intervento sperimentale.

Valutazione dell'efficienza fisica

Il livello generale di PA è stato valutato con il PASE (Washburn et al., 1999). Si tratta di un questionario composto da 12 voci autosomministrate, che valuta la PA effettuata nella settimana precedente durante il tempo libero, le attività domestiche e lavorative. Un punteggio, che va da 0 a 793, con punteggi più alti che indicano una maggiore PA è stato firmato (Logan et al., 2013). Il punteggio ottenuto dai partecipanti era $69,31 \pm 47,86$, il che significa un basso livello di PA.

Per valutare le funzioni fisiche, sono stati somministrati i seguenti test: la resistenza dell'arto superiore è stata valutata chiedendo ai partecipanti di eseguire il numero massimo di ripetizioni dell'esercizio di curl del braccio con un peso di 3 kg per gli uomini e 2 kg per le donne (Liu et al., 2017). La forza dell'arto superiore è stata valutata utilizzando il test di forza della presa delle mani (Massy-Westropp et al., 2011). I test di arm curl e handgrip sono stati eseguiti bilateralmente.

Inoltre, i partecipanti sono stati sottoposti ai seguenti test: sit-to-stand test per la resistenza degli arti inferiori (Jones et al., 1999), 8 feet up and go per l'equilibrio dinamico e le capacità di agilità (Cancela et al., 2013), test del cammino di sei minuti per valutare l'idoneità cardiorespiratoria (Enright, 2003), chair sit and reach test per la flessibilità del tronco e degli arti inferiori (Jones et al., 1998), soda pop test per la coordinazione oculo-manuale (Clark, 1989), Tinetti balance and gait test per l'equilibrio, il cammino e la valutazione del rischio di caduta (Tinetti et al., 1986).

Valutazione delle prestazioni cognitive

Il livello generale delle capacità cognitive è stato valutato attraverso il Mini-Mental State Examination (MMSE), un test ampiamente utilizzato della funzione cognitiva tra gli anziani; comprende test di orientamento, attenzione, memoria, linguaggio e abilità visuo-spaziali. È la misura di screening cognitivo breve più frequentemente somministrata per l'identificazione della

demenza. Tradizionalmente, un punteggio sommario inferiore a 24 è il punto in cui potrebbe essere presente un effettivo deterioramento cognitivo (Cockrell et al., 1988).

L'UPDRS è una scala che è stata sviluppata con lo scopo di unificare elementi di scale esistenti per fornire un mezzo completo ma efficiente e flessibile per monitorare la disabilità legata al PD (Fahn and Elton, 1987). La scala è composta da quattro componenti, in gran parte derivati da scale preesistenti che sono state riviste e modificate da un consorzio di specialisti dei disturbi del movimento: parte I, mentalità, comportamento e umore; parte II, attività della vita quotidiana; parte III, motoria; parte IV, complicazioni. Il concetto originale della scala è quello di fornire uno strumento di valutazione di base che potesse essere accompagnato da misure aggiuntive per concentrarsi sulla compromissione globale o su elementi specifici in modo più dettagliato.

Per valutare le funzioni cognitive, sono stati somministrati i seguenti test: Il Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT; Rey, 1958) è una misura della memoria verbale in cui il partecipante deve ripetere il maggior numero possibile di parole appena ascoltate in qualsiasi ordine. Questa procedura viene utilizzata, con la stessa lista di parole per cinque volte consecutive, fornendo al paziente almeno 45 secondi per la rievocazione libera delle parole. Questa è la prima parte del test e consiste nella rievocazione immediata (RAVLT_imm).

Dopo un intervallo di 15 minuti, durante il quale vengono eseguiti i test visuo-spaziali, al paziente viene chiesto di ricordare (senza che la lista venga riprodotta dall'esaminatore) il maggior numero possibile di parole della lista. Questa è la seconda parte del test e consiste nel richiamo differito (RAVLT_diff) (Caltagirone et al., 1995).

Il trail making test (TMT) (Reitan, 1958) è stato utilizzato per valutare il modo di procedere in compiti di ricerca visiva e spaziale e per indagare le capacità attentive del soggetto e la sua capacità di passare rapidamente da uno stimolo numerico a uno alfabetico (Mondini, 2021). Questo test ha due parti, ciascuna contenente 25 cerchi su un singolo foglio di carta. Nella parte A i cerchi contengono numeri da 1 a 25, e il compito è quello di collegare i cerchi in ordine numerico il più rapidamente possibile. La parte B contiene 13 cerchi numerati da 1 a 13 e 12 cerchi con le lettere da A a L. In questa parte è richiesto di collegare i cerchi in ordine sequenziale alternando numeri e lettere, ad esempio, 1-A, 2-B, 3-C, ecc. Il punteggio di ogni parte è il numero di secondi richiesti per completare il test.

Lo Stroop Color and Word Test (SCWT) è stato utilizzato per valutare la capacità di inibire l'interferenza cognitiva che si verifica quando l'elaborazione di una specifica caratteristica dello stimolo impedisce l'elaborazione simultanea di un secondo attributo dello stimolo, noto come

Effetto Stroop (Scarpina et al., 2017). Lo Stroop Color and Word Test (SCWT) è composto da tre schede, con sei file di cinque elementi. La prima sezione (C) contiene 30 rettangoli stampati in quattro colori (blu, verde, rosso o giallo); il soggetto deve riconoscere il colore il più velocemente possibile. La seconda sezione (W) contiene 30 parole comuni stampate nei quattro colori; il soggetto deve nominare il colore, ignorando la parola scritta. La terza sezione (CW) contiene 30 parole di colore stampate in un colore incongruente (ad esempio, la parola blu stampata in rosso; in questo caso, il soggetto deve nominare la parola "rosso"). Il numero di errori e il tempo impiegato per completare ogni condizione sono stati registrati. Il punteggio di interferenza (SCWT_time) e di errore (SCWT_error) sono stati calcolati adottando il metodo proposto da Caffarra e colleghi (2002) e utilizzando le seguenti formule:

$$SCWT_time = CWT - [(WT + CT)/2]$$

dove SCWT_time: punteggio di interferenza temporale; WT: tempo per completare la condizione W; CT: tempo per completare la condizione C; CWT: tempo per completare la condizione CW.

$$SCWT_error = CWE - [(WE + CE)/2]$$

dove SCWT_error: punteggio di interferenza degli errori; WE: errori nella condizione W; CE: errori nella condizione C; CWE: errori nella condizione CW.

Questo test ha una buona affidabilità test-retest (0,86 per il punteggio W, 0,82 per il punteggio C, 0,73 per il punteggio CW) (Golden et al 1976).

Infine, il Parkinson Fatigue Scale 16 (PFS-16) è stato utilizzato per valutare e misurare sia la presenza di fatica in questa popolazione, che il suo impatto nelle funzioni di vita quotidiane. È una scala di 16 quesiti valutati dal paziente. Sette quesiti toccano la presenza o l'assenza dell'esperienza soggettiva della fatica con un'enfasi sugli effetti fisici della stessa (es. "mi sento completamente svuotato") e nove quesiti riguardano l'impatto della fatica sulle attività quotidiane, compresa la socializzazione e il lavoro ma non l'esercizio fisico specifico (es. "sono più stanco delle altre persone che conosco"). Non viene misurata specificamente né la gravità né la frequenza dei sintomi della fatica. La scala è progettata per escludere le caratteristiche cognitive ed emotive della fatica. Ogni quesito ha un punteggio da 1 (forte disaccordo) a 5 (forte accordo). Un punteggio medio maggiore di 2.95 identifica chi manifesta sintomi di fatica con una sensibilità dell'81% e una specificità dell'85.7% (Brown et al., 2005)

Livelli sierici di fattori neurotrofici

Il Brain-Derived neurotrophic factor (BDNF) e il Nerve Growth Factor (NGF) sono stati indicati come potenziali biomarcatori sierici che correlano con la gravità della malattia, le prestazioni motorie e cognitive nei pazienti con PD (Huang et al., 2021). Per altri fattori di crescita, come il Fibroblast Growth Factor-21 (FGF-21), nonostante siano stati identificati come biomarcatori sierici potenzialmente rilevanti, finora sono stati prodotti dati controversi (Davis et al., 2019). Inoltre, sono state analizzate le variazioni dei livelli sierici di α -sinucleina. Nel presente lavoro, è stata utilizzata la metodologia ELISA per valutare le possibili variazioni sieriche di questi fattori di crescita dopo 12 settimane di sperimentazione. I campioni di sangue sono stati raccolti dalla vena antecubitale prima dell'allenamento e dopo 12 settimane di sperimentazione. Il sangue è stato centrifugato (Eppendorf Centrifuge 5804) per 15 minuti a 1200 di forza centrifuga relativa. Il surnatante è stato decantato e conservato in un congelatore a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ fino all'analisi. Il campione è stato analizzato presso l'Istituto di Farmacologia Traslazionale, Consiglio Nazionale delle Ricerche (IFT-CNR) a Roma. Il contenuto totale di BDNF è stato misurato con DuoSet® human BDNF ELISA (cat. DY248 R&D Systems), secondo le istruzioni del produttore. Il contenuto totale di FGF-21 è stato misurato con DuoSet® human FGF-21 ELISA (cat. DY2539 R&D Systems), secondo le istruzioni del produttore. Il contenuto totale di α -sinucleina è stato misurato con DuoSet® human α -sinucleina ELISA (cat. DY1338 R&D Systems), secondo le istruzioni del produttore. Il contenuto totale di proNGF è stato misurato secondo Soligo et al. (2015).

5.2.6. Analisi statistica

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software SPSS versione 23.0 (IBM, Chicago, IL, USA). Tutte le variabili sono state testate per la distribuzione normale utilizzando il test di Shapiro-Wilk. Per tutti i test statistici il livello α è stato fissato a 0,05. Le variabili fisiche e cognitive hanno mostrato una distribuzione normale, quindi l'RM-ANOVA è stata eseguita between (ETG vs STG vs CON) e within (pre- vs post-intervento). Inoltre, le prove di arm-curl e handgrip sono state valutate nei due emilati (destra vs sinistra). I fattori neurotrofici (BDNF, FGF21, proNGF, α -syn) sono stati sottoposti a RM-ANOVA per valutare le differenze between e within. I fattori neurotrofici sono stati analizzati anche in termini di incrementi in assoluto ($^{\Delta}$ BDNF, $^{\Delta}$ FGF21, $^{\Delta}$ proNGF, $^{\Delta}$ α -syn). I confronti post-hoc sono stati eseguiti utilizzando il test di Bonferroni.

5.3. Risultati

5.3.1. Performance fisiche

La RM-ANOVA eseguita sui test soda pop, 8-feet up and go, chair sit and reach e handgrip non ha mostrato alcun effetto significativo di intervento, tempo o interazione (tutti $p > 0,05$).

Un effetto significativo del tempo è stato osservato per l'arm curl test. Il test Bonferroni post-hoc ha mostrato che sia ETG che la STG nella valutazione post-intervento sono stati in grado di eseguire più ripetizioni rispetto alla valutazione pre-intervento (entrambi $p = 0,003$). Nessun effetto significativo del lato del corpo è stato osservato per l'arm curl ($F = 1,73$; $p = 0,199$).

La RM-ANOVA ha mostrato un effetto significativo del tempo per il test sit to stand. Il test post-hoc ha mostrato che sia ETG che STG nella valutazione post-intervento sono stati in grado di eseguire più ripetizioni che nella valutazione pre-intervento ($p = 0,004$ e $p = 0,030$, rispettivamente).

La RM-ANOVA eseguita sul test del cammino di 6 minuti ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo e il test post-hoc ha rivelato che nella condizione post-ETG, i partecipanti sono stati in grado di coprire una distanza maggiore rispetto al post-STG ($p = 0,004$) e al pre-ETG ($p < 0,001$).

Inoltre, per il test di valutazione dell'equilibrio e qualità dell'andatura di Tinetti, la RM-ANOVA ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo. La post-hoc di Bonferroni ha mostrato che dopo l'intervento ETG (post-ETG), i partecipanti avevano un maggiore equilibrio e capacità di cammino che dopo la condizione di STG (post-STG; $p = 0,002$) e prima del trattamento ETG (pre-ETG; $p < 0,001$). I risultati della valutazione di efficienza fisica sono riportati nella tabella 9.

Tabella 9. Variabili di valutazione fisica. Dati come media e DS.

Variable	Endurance Training		Strength Training		Control		Intervention	Time	Interaction
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	F (2,22)	F (2,22)	F (2,22)
Arm curl [§]	16.89 (4.88)	21.22 (3.46)	15.13 (3.56)	19.75 (2.96)	18.37 (6.11)	18.62 (6.80)	F=0.29 p=0.749	F=14.95 p=0.001	F=3.09 p=0.065
Sit to stand [§]	10.11 (2.93)	12.22 (3.19)	9.00 (2.72)	10.62 (4.27)	10.00 (1.07)	10.00 (2.14)	F=0.54 p=0.544	F= 9.80 p=0.005	F=2.57 p=0.099
Soda pop	11.80 (1.86)	12.50 (1.45)	15.57 (6.30)	16.51 (8.01)	11.63 (1.21)	11.62 (2.17)	F=3.134 p=0.063	F=0.526 p=0.476	F=0.143 p=0.867
8-feet up & go	13.82 (2.47)	11.98 (2.61)	18.00 (6.51)	26.06 (23.45)	13.66 (1.27)	15.90 (2.37)	F=3.242 p=0.058	F=1.288 p=0.269	F=1.358 p=0.278
6-mwt ^{*,§,#}	319.33 (106.91)	412.78 (93.94)	248.61 (97.27)	238.62 (120.00)	308.81 (82.71)	305.87 (75.41)	F=3.66 p=0.042	F=5.55 p=0.028	F=8.91 p=0.001
Chair sit and reach	-1.56 (7.86)	-0.44 (6.33)	-3.12 (7.68)	-1.00 (10.00)	4.5 (3.46)	3.62 (4.37)	F=2.99 p=0.071	F=0.194 p=0.664	F=0.235 p=0.792
Handgrip	33.11 (12.91)	34.61 (13.03)	26.92 (8.88)	28.36 (7.80)	28.15 (8.92)	28.87 (9.06)	F=0.920 p=0.413	F=3.369 p=0.080	F=0.138 p=0.872
Tinetti ^{*,§,#}	22.44 (3.24)	26.56 (2.07)	19.62 (5.88)	18.87 (6.49)	23.75 (1.91)	23.00 (1.69)	F=4.16 p=0.029	F=6.50 p=0.018	F=23.43 p<0.001

* denota un effetto significativo del trattamento; § denota un effetto significativo del tempo; # denota un'interazione significativa.

5.3.2. Performance cognitive

La RM-ANOVA eseguita sui test RAVLT_diff, SCWT_time e TMT non ha mostrato alcun effetto significativo dell'intervento, del tempo o dell'interazione (tutti ps > 0,05).

Un effetto significativo del tempo è stato osservato per il test SCWT_error. Il test Bonferroni post-hoc ha mostrato che sia ETG che STG nella valutazione post-intervento hanno effettuato meno errori nell'esecuzione del test rispetto alla valutazione pre-intervento (p= 0,048 e p= 0,010, rispettivamente).

La RM-ANOVA ha mostrato un effetto significativo del tempo per il test MMSE. Il test post-hoc ha mostrato che sia il ETG che la STG nella valutazione post-intervento hanno riportato una migliore funzionalità cognitiva generale rispetto alla valutazione pre-intervento (p= 0,002 e p= 0,010, rispettivamente). Non sono emerse differenze significative tra gruppi.

La RM-ANOVA eseguita sul test RAVLT_imm ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo e il test post-hoc ha rivelato che nella condizione post-ETG, i partecipanti hanno ottenuto prestazioni migliori rispetto al post-STG (p= 0,002), al post-CON (p= 0,011) e al pre-ETG (p< 0,001). Inoltre, il post STG ha mostrato prestazioni migliori rispetto alla condizione pre STG (p= 0,042).

Inoltre, per il test PFS-16 la RM-ANOVA ha mostrato una significativa interazione intervento-tempo. Il test di Bonferroni (post-hoc) ha mostrato che dopo l'intervento ETG (post-ETG), i partecipanti hanno riportato meno fatica rispetto alla condizione di STG (post-STG; $p=0,013$), e la condizione di CON (post-CON; $p<0,001$) e significativamente minore rispetto ai livelli precedenti all'intervento (pre-ETG; $p<0,001$). Inoltre, la RM-ANOVA ha mostrato che la condizione di CON nella post-valutazione ha riportato più fatica percepita che nella pre-valutazione ($p=0,032$). I risultati della valutazione cognitiva sono riportati nella tabella 10.

Tabella 10. Variabili delle performance cognitive. Dati come media e DS.

Variable	Endurance Training		Strength Training		Control		Intervention	Time	Interaction
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	F (2,22)	F (2,22)	F (2,22)
RAVLT	34.93	48.16	26.86	30.57	34.33	33.74	F=5.53	F= 31.12	F=18.07
Imm^{*,§,#}	(3.44)	(7.21)	(12.09)	(13.13)	(4.20)	(5.47)	$p=0.011$	$p<0.001$	$p<0.001$
RAVLT diff	8.50	10.13	6.86	8.14	8.69	8.61	F=0.798	F= 2.91	F=0.881
	(3.55)	(2.18)	(3.89)	(5.01)	(1.19)	(2.49)	$p=0.463$	$p=0.102$	$p=0.429$
SCWT time	17.30	17.96	39.49	37.31	20.95	23.60	F=2.391	F=0.020	F=0.258
	(11.84)	(11.61)	(35.53)	(32.77)	(7.77)	(21.80)	$p=0.115$	$p=0.890$	$p=0.775$
SCWT error[§]	2.03	0.03	4.50	1.62	1.44	1.03	F=8.97	F=9.37	F=1.52
	(4.75)	(2.02)	(3.48)	(3.67)	(2.58)	(2.28)	$p=0.327$	$p=0.006$	$p=0.240$
TMT	56.00	21.32	111.90	67.46	45.14	57.64	F=1.46	F=2.91	F=1.77
	(58.53)	(79.45)	(95.34)	(71.77)	(51.63)	(61.29)	$p=0.253$	$p=0.102$	$p=0.193$
MMSE[§]	25.75	27.70	25.01	26.64	24.95	24.95	F=2.51	F=13.17	F=3.35
	(1.27)	(1.17)	(1.70)	(1.57)	(2.20)	(2.71)	$p=0.104$	$p=0.001$	$p=0.053$
PFS-16^{*,§,#}	3.25	2.41	3.21	3.00	3.26	3.64	F=7.29	F=5.76	F=14.49
	(0.42)	(0.40)	(0.32)	(0.44)	(0.54)	(0.29)	$p=0.004$	$p=0.025$	$p<0.001$

* denota un effetto significativo del trattamento; § denota un effetto significativo del tempo; # denota un'interazione significativa.

5.3.3. Livelli sierici dei fattori neurotrofici

La RM-ANOVA eseguita sui livelli sierici di BDNF non ha mostrato alcun effetto significativo dell'intervento, del tempo o dell'interazione (tutti $ps > 0,05$).

La RM-ANOVA eseguita sui livelli sierici di α -sinucleina ha evidenziato un effetto significativo nel tempo; il test post-hoc ha mostrato che l'ETG nella valutazione post-intervento mostra dei livelli sierici di α -sinucleina significativamente più bassi che nel pre-intervento ($p=0,037$).

Inoltre, per quanto riguarda i livelli sierici di FGF-21, la RM-ANOVA ha mostrato una significativa interazione nel tempo; il test post-hoc ha mostrato che l'ETG nella valutazione post-intervento mostra dei livelli sierici di FGF-21 significativamente più alti che nel pre-intervento ($p=0,023$). Inoltre il Bonferroni post-hoc ha evidenziato che il gruppo ETG nel post-intervento ha

valori sierici di FGF-21 significativamente maggiori del CON nel post-intervento ($p= 0.026$). I risultati dei livelli sierici dei fattori neurotrofici sono riportati nella tabella 11.

Tabella 11. Livelli dei fattori neurotrofici. Dati come media e DS.

Variable	Endurance Training		Strength Training		Control		Intervention	Time	Interaction
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	F (2,22)	F (2,22)	F (2,22)
α-syn (pg/ml)[§]	5318,8 (1075.3)	3565,4 (1240.7)	3803,8 (830.9)	5217,1 (1099.7)	3585,7 (874.3)	2806,9 (459.2)	F(1, 21)= 0,92 p= 0.346	F= 5,87 p=0.009	F= 0,62 p= 0.545
BDNF (pg/ml)	1706,0 (308.7)	1897,1 (228.2)	2217,9 (185.9)	1717,5 (269.0)	1763,2 (254.1)	1198,8 (241.3)	F(1, 21)= 4,41 p= 0.061	F= 3,16 p= 0.062	F= 1,18 p= 0.324
FGF-21 (pg/ml)^{*§}	913,7 (146.6)	2259,5 (614.0)	739,4 (259.6)	1683,0 (578.4)	897,4 (185.1)	773,4 (196.2)	F(1, 21)= 7,46 p=0.012	F(2, 21)= 2,75 p=0.037	F(2, 21)= 1,51 p=0.243

* denota un effetto significativo del trattamento; § denota un effetto significativo del tempo.

Quando sono stati considerati gli interventi assoluti pre e post, è emersa una significativa interazione per $\Delta\alpha$ -sinucleina con decrementi significativi (-1703.06 pg/mL) osservati dopo il trattamento ETG, mentre nel trattamento STG è stato osservato un aumento (1413.26 pg/mL; $p= 0,014$). I risultati sono riportati in tabella 12.

Tabella 12. Livelli dei fattori neurotrofici (Δ scores). Dati come media e DS.

Variable	Endurance Training	Strength Training	Control	F (2,21)	p-value
$\Delta\alpha$-syn (pg/ml)	-1703.06 \pm 1285.29	1413.26 \pm 2402.31	-778.72 \pm 2074.35	5.24	0.014*
ΔBDNF (pg/ml)	229.97 \pm 1031.63	-500.39 \pm 543.85	-564.34 \pm 357.50	3.14	0.064
ΔFGF-21 (pg/ml)^{§,*}	1345.76 \pm 1700. 57	943.65 \pm 1302.71	-124.06 \pm 662.25	2.75	0.087

* $p < 0.005$

5.4. Discussioni

5.4.1. Performance fisiche

Dopo 12 settimane di allenamento con WB-EMS, miglioramenti significativi nella forza degli arti superiori ed inferiori (arm curl e sit to stand) sono stata evidenziata in entrambe le tipologie di protocolli WB-EMS. Questo era un risultato atteso, soprattutto se considerato nel quadro di un

allenamento protratto per 12 settimane. Il rafforzamento muscolare, promuovendo l'ipertrofia muscolare, contrasta la perdita di massa muscolare, comunemente osservata negli anziani, che porta a un peggioramento della camminata, della mobilità e della postura, contrastando il pericolo di cadute. Carvalho e colleghi (2015) hanno confrontato gli effetti di un allenamento aerobico e di forza sulle capacità funzionali (Senior Fitness Test) in soggetti affetti da Parkinson. Questo studio ha mostrato che entrambi gli allenamenti sono risultati efficaci nel migliorare le capacità funzionali in questo target di popolazione. Nessuna differenza tra i due gruppi è stata evidenziata. Questo risultato ci permette di evidenziare il ruolo fondamentale che hanno le WB-EMS a livello dei parametri fisici e cognitivi. Probabilmente l'applicazione dell'elettromiostimolazione ha implementato l'intensità di lavoro muscolare nell'esercizio aerobico, consentendo il potenziamento muscolare di pari entità rispetto al lavoro esclusivo di forza e tutti quegli effetti positivi forniti dall'esercizio regolare protratto a moderata intensità, desumibili dagli studi presenti in letteratura. Pertanto, sia l'allenamento di forza che l'allenamento aerobico, associato al trattamento farmacologico, può contribuire a migliorare la salute fisica dei pazienti affetti da PD, tuttavia l'allenamento aerobico in questo studio è risultato significativamente più efficace. De Camargo e colleghi (2016) hanno evidenziato che un protocollo di allenamento della forza applicato per 12 settimane su donne anziane ha portato a miglioramenti della forza degli arti superiori e inferiori, portando un miglioramento della qualità della vita; tuttavia, l'allenamento aerobico è risultato il più studiato e il più efficace per questa popolazione. Tra i diversi tipi di esercizio fisico (ad esempio, allenamento della resistenza, flessibilità, coordinazione, ecc.), l'allenamento di tipo aerobico è stato il più studiato e ha mostrato benefici inequivocabili per la salute (Voss et al., 2011), così come in diverse popolazioni cliniche, come la PD (Ahlskog, 2011; Goodwin et al., 2014).

Dodici settimane di allenamento con WB-EMS superimposte ad un allenamento di endurance hanno portato a miglioramenti significativi nella capacità di cammino e di equilibrio (6-minute walking test e Tinetti balance and gait test) nel gruppo ETG. I disturbi dell'andatura sono un segno comune della malattia di Parkinson. Essi consistono in passi corti e falsi, diminuzione della cadenza e della velocità di camminata, oltre alla compromissione dell'equilibrio (Walton et al., 2014). Le difficoltà di deambulazione aumentano il rischio di cadute, comorbidità e la mortalità, riducendo infine la qualità della vita (Mehrholz et al., 2010; Matinoli et al., 2009). Pertanto, la riabilitazione della deambulazione è considerata un passo principale nel trattamento di questi pazienti (Abbruzzese et al., 2015). L'allenamento dell'andatura, ha dimostrato essere efficace nel migliorare lo schema della camminata nei pazienti con PD (Harro et al., 2014). Infatti, molti studi

hanno dimostrato che la velocità dell'andatura e la lunghezza del passo migliorano nei pazienti con PD dopo un periodo di allenamento rispetto a pazienti PD non allenati (de Goede et al., 2001; Tomlison et al., 2013). Negli ultimi anni, diversi studi hanno dimostrato un maggiore miglioramento della camminata con il treadmill piuttosto che su strada in soggetti affetti da PD. (Mehrholtz et al., 2010; Ganesan et al., 2014). Gli autori hanno ipotizzato che questo miglioramento fosse dovuto alla minor base di appoggio consentita durante la camminata su treadmill, che di conseguenza ha migliorato l'equilibrio e il controllo della camminata. Il miglioramento di questa capacità è di fondamentale importanza in questi soggetti, poiché l'instabilità posturale e le difficoltà di deambulazione li inducono a ridurre l'attività fisica (Fertl et al., 1993), creando un circolo vizioso. Pelosin (2009) e Schenkman (2012) hanno dimostrato che un miglioramento dell'andatura in pazienti con PD, da lieve a moderato, può essere osservato dopo un periodo di allenamento aerobico. Arcolin e colleghi (2016) hanno mostrato un simile miglioramento dell'equilibrio anche in pazienti sottoposti ad allenamento aerobico su cicloergometro. Questo era inaspettato perché si pensava che il solo allenamento delle gambe da seduti non avrebbe portato ad un miglioramento di questa capacità; probabilmente il miglioramento sul piano cardiovascolare e il potenziamento muscolare degli arti inferiori ha contribuito ad aumentare l'equilibrio. Il nostro allenamento di forza con WB-EMS si è focalizzato solo sul miglioramento della forza ma non sul miglioramento del sistema cardiovascolare, per questo motivo possiamo dire che per questa popolazione è più raccomandato un lavoro di condizionamento cardiovascolare rispetto ad uno di forza. Tuttavia, va notato che, anche se l'esercizio su cicloergometro è stato eseguito in posizione seduta, si verifica una stabilizzazione attiva del tronco (McDaniel et al, 2005) e questo potrebbe giocare un ruolo nel miglioramento dell'equilibrio osservato nei pazienti (Horak, 2010). Queste ipotesi giustificano il miglioramento nell'equilibrio e nella capacità di cammino osservato nel nostro studio in seguito ad attività aerobica con WB-EMS eseguita su remoergometro. La nostra scelta è stata quella di effettuare l'allenamento aerobico su remoergometro non allenando direttamente il cammino ma potenziando sia gli arti superiori che inferiori. In aggiunta, con il remoergometro mettevamo in sicurezza i soggetti PD rispetto ad un allenamento su treadmill, in cui i soggetti non possono arrestare volontariamente il cammino, e, rispetto al cicloergometro avevamo il vantaggio di allenare anche gli arti superiori, che contribuiscono al corretto assetto della camminata e al mantenimento della postura e dell'equilibrio. Per questi motivi ci aspettavamo che questa metodica potesse portare ad una migliore coordinazione tra gli arti superiori ed inferiori, che hanno facilitato il miglioramento dei test del cammino e della capacità di equilibrio.

Non sono emersi miglioramenti nella flessibilità (chair sit and reach), questo potrebbe essere spiegato dall'aumento del tono muscolare che si verifica dopo dodici settimane di allenamento di endurance o di forza, o nessuno sforzo muscolare ottimale.

In contrasto con il precedente studio in acuto, non sono emersi miglioramenti significativi nella coordinazione oculo- manuale (soda pop). A nostro avviso, questo è dovuto al meccanismo di pre-eccitazione neuromuscolare che si osserva dopo uno stimolo acuto in seguito ad esposizione a elettrostimolazione (Gondin et al., 2006; Maffiuletti et al., 2000). Per instaurare adattamenti neuronali più importanti è probabilmente necessario un maggiore tempo di allenamento.

Non sono emerse differenze significative nella capacità di velocità e agilità (8-feet up and go). A nostro avviso questo è dovuto alla forte complessità di questo test, sia a livello coordinativo che di attivazione neurale. I risultati sono al limite della significatività a favore dell'allenamento aerobico, quindi possiamo dire che una durata maggiore della sperimentazione avrebbe permesso di raggiungere la significatività in questo test. L'allenamento di forza, in particolare quello isometrico come proposto dal nostro studio, non va a stimolare l'organizzazione dei pattern di attivazione. L'allenamento di tipo isometrico è un allenamento di tipo aspecifico, per questo motivo non ci aspettavamo miglioramento.

Infine, non sono emerse differenze significative nell'handgrip. Questo risultato è in contrasto con altri studi (Leal et al., 2019; de Lima et al., 2019) che hanno mostrato come un allenamento di resistenza muscolare ha portato a miglioramenti della forza nell'handgrip in soggetti affetti da Parkinson. A differenza del nostro studio, questi protocolli avevano durata rispettivamente di 24 e 20 settimane; probabilmente, protocolli di allenamento WB-EMS più lunghi potrebbero essere più efficaci nell'aumentare la forza muscolare relativa all'handgrip in individui con PD. In realtà, ci saremmo aspettati di trovare un miglioramento di questo parametro nel lavoro su remoergometro, dove il soggetto è sempre stimolato ad effettuare una forza di presa nell'impugnatura dell'attrezzo.

5.4.2. Performance cognitive

Dopo 12 settimane di allenamento con WB-EMS, miglioramenti significativi nella memoria immediata e attenzione selettiva, (RAVLT imm, Stroop errori) è stata evidenziata in entrambi i protocolli di allenamento WB-EMS. Inoltre, è emerso che il gruppo ETG ha ottenuto prestazioni migliori di STG e CON nel test di memoria immediata. È stato dimostrato che in soggetti adulti la plasticità cerebrale è significativamente sollecitata dall'esercizio fisico, tuttavia, anche negli anziani e in popolazioni fragili l'esercizio fisico contribuisce a mantenere o migliorare questa plasticità (Bherer, Erickson, & Liu Ambrose, 2013). David e colleghi (2015) hanno dimostrato che

24 mesi di esercizio progressivo di resistenza muscolare, due volte a settimana, possono essere efficaci nel migliorare l'attenzione e la memoria di lavoro in pazienti non dementi con PD da lieve a moderata. Nello studio di Kirk-Sanchez e McGough (2014), gli interventi di allenamento della forza hanno mostrato effetti positivi sulla cognizione. Questo dimostra come un trattamento basato sull'esercizio fisico è consigliabile sia a scopo preventivo sia nelle fasi iniziali delle malattie neurodegenerative. Per questo motivo nel nostro studio abbiamo preferito reclutare soggetti con una sintomatologia di PD da lieve e moderato della scala Hoehn e Yahr. In una revisione sistematica non è stato trovato un chiaro effetto della modalità di esercizio sulla funzione cognitiva negli individui con PD. Nello studio di Stuckenschneider e colleghi (2019) è stato evidenziato che l'esercizio aerobico regolare tendeva a migliorare la memoria negli individui con PD. Duchesne e colleghi (2015) hanno dimostrato che 3 mesi di regime aerobico ha prodotto un miglioramento significativo sull'attenzione selettiva. È stato dimostrato che una performance compromessa sullo Stroop è associata a un maggior rischio di demenza successiva in pazienti non dementi con PD (Janvin et al., 2005). Possiamo ipotizzare che l'esercizio fisico prolungato e strutturato, che porta miglioramenti nell'attenzione selettiva, potrebbe come conseguenza ridurre il rischio di demenza successiva nei pazienti con PD.

I test cognitivi che valutano la capacità di inibizione e flessibilità cognitiva (Stroop_time e TMT) non hanno mostrato alcun cambiamento statisticamente significativo, in linea con precedenti studi (Duchesne et al., 2015). La mancanza di effetti dell'esercizio fisico sulla flessibilità cognitiva potrebbe essere attribuita alla componente motoria del trail making task che aumenta la difficoltà del compito nei pazienti con PD (Duchesne et al., 2015). Sono necessari ulteriori studi per chiarire la misura in cui l'esercizio aerobico abbia effetti più evidenti e specifici nel migliorare l'inibizione (come misurato dal test di Stroop), piuttosto che la funzione di flessibilità cognitiva (misurata dal TMT) in questa popolazione. Una plausibile spiegazione è relativa al fatto che la durata dell'allenamento (cronico vs. acuto) e l'intensità (intenso vs. moderato) giocano un ruolo fondamentale nel miglioramento cognitivo.

I risultati del nostro studio evidenziano che il gruppo ETG ha ottenuto miglioramenti significativi rispetto a STG e CON nella percezione di fatica (PFS-16); in aggiunta il gruppo CON ha riportato un peggioramento del senso di fatica al termine della sperimentazione. La fatica è un sintomo comune nel PD e in uno studio basato sulla comunità, il 44,2% dei pazienti con PD ha dichiarato di aver sperimentato la fatica (Karlsen et al., 1999). Nella popolazione generale, è stato dimostrato che la fatica è inversamente correlata all'attività fisica e le persone fisicamente attive hanno circa il 40% di rischio in meno di sperimentare sensazioni di scarsa energia e fatica rispetto

a gruppi di controllo sedentario (Puetz, 2016). La revisione attuale non fornisce alcuna prova che l'allenamento con esercizi di resistenza sia associato al miglioramento della fatica auto-riferita nel PD. Shulman e colleghi (2013) hanno valutato la fatica attraverso la Parkinson Fatigue Scale, e hanno mostrato che l'allenamento con esercizi di resistenza muscolare non ha diminuito la percezione della fatica riportata dai pazienti PD. Tuttavia, altri studi (Kelly et al., 2014; Canning et al., 2012) hanno evidenziato che l'allenamento di resistenza muscolare è stato associato con una migliore sensazione di energia e una minore fatica in soggetti affetti da Parkinson. L'esercizio fisico è ben tollerato negli individui con PD (Shulman et al., 2013), e un effetto paradossale con un aumento della fatica indotta dall'esercizio sembra improbabile. Chaudhuri e colleghi (2005) hanno ipotizzato che la ridotta economia di movimento potrebbe contribuire all'aumento della fatica, tipicamente riportata dalle persone con PD; questo conferma i nostri risultati in quanto il gruppo ETG ha ottenuto un miglioramento significativo nella capacità di cammino ed equilibrio, oltre che un miglioramento nella sensazione di fatica. Naturalmente la minore percezione della fatica, molto probabilmente, favorisce l'aderenza a protocolli di esercizio fisico nel PD. Questa affermazione è dovuta anche in seguito a quello che abbiamo verificato nello studio pilota in acuto; i soggetti in seguito alle WB-EMS si sentivano più performanti e chiedevano di ripetere con maggiore regolarità l'allenamento. La loro minor percezione della fatica dopo ogni seduta di allenamento, porta questi soggetti ad avere maggiore aderenza.

Infine, è emerso che entrambi i gruppi sottoposti ad allenamento WB-EMS hanno ottenuti miglioramenti nella funzionalità cognitiva generale (MMSE). Precedenti revisioni hanno suggerito che sia l'allenamento aerobico che quello di resistenza, o una loro combinazione, potrebbero influenzare positivamente la funzione cognitiva (Reynolds et al., 2016; Ni et al., 2016). Tutte le modalità di esercizio sono associate a una migliore funzione cognitiva negli individui con PD. Tuttavia, i miglioramenti potrebbero essere limitati ad alcuni domini cognitivi (funzione cognitiva globale e memoria) (Stuckenschneider et al., 2019). Colcombe e colleghi (2004) hanno fornito prove che le regioni cerebrali della rete attenzionale erano più attive in individui altamente in forma e allenati aerobicamente. Un anno di moderato allenamento aerobico in adulti anziani è stato anche trovato migliorare la connettività funzionale tra regioni che tipicamente mostrano interruzioni legate all'età (Voss et al., 2010). Oltre ai meccanismi strutturali e funzionali del cervello, i benefici dell'esercizio fisico sulle funzioni cognitive potrebbero anche essere dovuti a meccanismi indiretti (Petzinger et al., 2013). Per esempio, Spirduso e colleghi (2005) hanno suggerito che l'allenamento aerobico può migliorare la cognizione migliorando le condizioni di salute (ad es, diminuendo lo stress e le difficoltà del sonno) e riducendo le malattie croniche

malattie croniche (es. infiammazione, malattie coronariche) che hanno anche hanno un impatto sulle funzioni neurocognitive. Infatti, è stato dimostrato che l'esercizio fisico migliora le capacità mentali riducendo la depressione (Bartholomew et al., 2008), l'ansia e lo stress cronico, migliorando l'autoefficacia (McAuley et al., 2008). C'è un'ampia evidenza che il miglioramento delle prestazioni su un compito di apprendimento della sequenza motoria è mediato dalla plasticità nei sistemi cortico-cerebellare e cortico-striatale (Doyon & Benali, 2005; Doyon et al, 2009). Naturalmente la plasticità cerebrale sia a livello sinaptico che a livello di neurogenesi, è dipendente dall'increzione dei fattori neurotrofici.

5.4.3. Livelli di fattori neurotrofici

Dodici settimane di allenamento con WB-EMS sono risultate efficaci nell'aumentare i livelli sierici di FGF-21 e diminuire quelli di α -sinucleina nel gruppo ETG. Le concentrazioni muscolari di FGF-21 aumentano rapidamente in seguito alla stimolazione aerobica e questo si traduce in un aumento del rilascio in circolo, in quanto l'FGF prodotto dal muscolo ha effetti autocrini, paracrini ed endocrini (Tanimura et al., 2016). Keihanian e colleghi (2019) hanno mostrato che otto settimane di allenamento aerobico e di resistenza muscolare hanno aumentato le concentrazioni sieriche di FGF-21, ma, contrariamente ai nostri risultati, con effetti superiori in seguito ad allenamento di resistenza muscolare. Il ruolo di FGF nella neuroinfiammazione è una delle caratteristiche patologiche caratteristiche del PD (Hassanzadeh and Rahimmi, 2018). L'effetto a catena che si sviluppa in seguito all'aumento dell'FGF-21 è quello di ridurre l'accumulo anomalo dell' α -sinucleina riducendo la sua neurotossicità che a sua volta riduce lo stress ossidativo e quindi la degradazione a livello mitocondriale. Alti livelli e aggregazioni di α -sinucleina sono noti induttori di stress nel reticolo endoplasmatico (Colla et al., 2012), caratteristico nel PD (Wang, 2016). Lo stress del reticolo endoplasmatico nei neuroni dopaminergici è positivamente correlato con un mal-ripiegamento e accumulo di α -sinucleina. Quindi tutti questi fattori, stimolati dall'aumento dell'FGF portano quindi ad un miglioramento dei sintomi motoria, aumentando il tasso di sopravvivenza dei neuroni nella nella substantia nigra e i livelli di dopamina striatale, abbassando e regolando i mediatori dello stress nel reticolo endoplasmatico e i livelli di apoptosi. I nostri risultati dimostrano che FGF-21 e α -sinucleina sono tra loro correlati. Precedenti studi su modelli animali confermatno i nostri risultati. Minakaki e colleghi (2019) hanno valutato gli effetti di 4 settimane di esercizio aerobico su treadmill su topi. L'esercizio sul treadmill ha mostrato una riduzione di α -sinucleina nella corteccia cerebrale. Una recente review (Liu et al., 2021) ha evidenziato il ruolo critico di FGF e dei suoi recettori nella neuroprotezione e neurogenesi nel PD. Nei modelli di PD, FGF fornisce un'adeguata protezione contro la perdita di neuroni

dopaminergici, promuove differenziazione delle cellule coltivate in neuroni dopaminergici nel modello animale di PD, e allevia i sintomi neurologici. Questi risultati indicano che FGF svolge un ruolo importante nella differenziazione e nella sopravvivenza dei neuroni dopaminergici e nell'eziologia e nel trattamento del PD.

Non sono emersi risultati significativi per quanto riguarda i livelli sierici di BDNF. Il BDNF si presenta come uno dei fattori chiave alla base della plasticità cerebrale indotta dall'esercizio e del miglioramento cognitivo (Intlekofer et al. 2013). Sembrerebbe imperativo capire come l'esercizio eleva il BDNF al fine di programmare delle modalità più efficaci di esercizio per massimizzare BDNF in circolazione. Tuttavia, poca attenzione è stata dedicata a capire e collegare i meccanismi attraverso i quali l'esercizio potrebbe elevare il BDNF a una determinata modalità di esercizio. Sembra che entrambe le modalità di esercizio aerobico e di resistenza siano efficaci per aumentare il BDNF circolante (Dinoff et al. 2017). Gli aspetti dell'esercizio che guidano la risposta BDNF sono equivoci. Una revisione di Knaepen e colleghi (2010) suggerisce che il BDNF aumenta in maniera intensità-dipendente, ed evidenzia che i livelli di BDNF aumentano in seguito ad allenamenti aerobici eseguiti per 4-7 volte a settimane con un'intensità molto elevata di VO₂max (Seifert et al., 2010). Probabilmente la nostra tipologia di esercizio non ha raggiunto l'intensità necessaria per aumentare il BDNF. Futuri studi dovranno valutare se l'aumento della frequenza dello stimolo di elettrostimolazione possa portare ad un aumento dei livelli sierici di BDNF. Altre revisioni riferiscono che è la durata dell'esercizio a determinare l'aumento dei livelli di BDNF, con esercizi aerobici di durata maggiore di 20 minuti (Dinoff et al. 2017). Questi dati ci fanno ipotizzare che il non miglioramento dei livelli sierici di BDNF sono causati dalla non adeguata frequenza di allenamento a cui sono stati sottoposti i pazienti e alla non adeguata durata di allenamento. Futuri studi con le WB-EMS dovranno valutare l'efficacia di protocolli di allenamento più duraturi e/o con frequenza settimanale maggiore.

5.5. Conclusioni

I risultati di questo progetto hanno dimostrato l'efficacia delle WB-EMS applicate per la prima volta in soggetti affetti da Parkinson. Questa metodica di allenamento, grazie al suo risultato in termini di rapporto tra tempo di somministrazione e benefici raggiunti, è una promettente strategia per soggetti che sono impossibilitati o poco motivati a praticare attività fisica di lunga durata, come i soggetti affetti da Parkinson. In aggiunta, garantisce una maggiore aderenza a programmi di attività motoria strutturata nel lungo periodo. Tale aderenza è garantita da diversi fattori. Innanzitutto la stretta vicinanza tra operatore e paziente (rapporto 1:1) garantisce di dare feedback

continui, verbali e tattili, sul movimento. Inoltre, la possibilità di personalizzare i protocolli, regolando l'intensità sulla base dello sforzo percepito dal soggetto, garantisce non solo l'efficacia di questa applicazione ma anche la sicurezza. Questa personalizzazione avviene inoltre di seduta in seduta, in funzione dello stato di salute attuale del soggetto, che noi sappiamo avere una grande volubilità dei sintomi della malattia di Parkinson.

Da un punto di vista osservazionale, i soggetti hanno mostrato un grande interesse e partecipazione a questo progetto. I soggetti hanno mostrato un grande miglioramento dal punto di vista motorio, molti soggetti entravano in laboratorio con l'ausilio di un bastone o accompagnati da un parente, ma al termine dell'allenamento erano capaci di camminare autonomamente. Questo è un aspetto fondamentale per loro, in quanto favorisce l'aderenza a programmi futuri, conferisce loro una maggiore indipendenza nelle attività di vita quotidiane e, di conseguenza, può ridurre i sintomi di depressione correlati alla patologia e alla loro scarsa autonomia fisica. Questi risultati sono avvalorati dal fatto che gli stessi soggetti hanno manifestato una forte motivazione di proseguire il programma di allenamento anche in futuro.

L'allenamento aerobico con la sovrapposizione di WB-EMS è risultato essere più efficace dell'allenamento di forza nel migliorare la forma fisica, le performance cognitive, la percezione della fatica e il livello di fattori neurotrofici, correlati ad un miglioramento della funzionalità cognitiva globale e alla severità della patologia del Parkinson. Tuttavia, non sono emersi miglioramenti significativi nei livelli sierici di BDNF; da diversi studi si evince che il BDNF è sollecitato da un'attività duratura e di intensità più elevata, quindi successive applicazioni potrebbero prevedere protocolli con una frequenza di elettrostimolazione maggiore (> 7Hz) per massimizzare gli effetti sui livelli sierici di fattori neurotrofici, e i benefici a loro correlati.

Questa metodica di allenamento WB-EMS ci ha spinto a valutare non solo gli effetti sui sintomi motori e non motori, ma anche valutare i meccanismi che promuovono questi effetti, come le neurotrofine endogene. I risultati ci indicano che i miglioramenti dei sintomi motori e non motori sono dati dai miglioramenti dei livelli sierici di FGF-21 e α -sinucleina. Questo permette di agire non solo sulla sintomatologia ma anche sul rallentamento della progressione della malattia, in quanto queste variazioni portano ad un aumento del tasso di sopravvivenza dei neuroni nella substantia nigra e dei livelli di dopamina striatale, abbassando e regolando i mediatori dello stress nel reticolo endoplasmatico, fattori che influenzano la progressione della malattia.

Ci sentiamo di poter consigliare anche un allenamento di tipo combinato (endurance + strength) perché dalla nostra esperienza e dai risultati della letteratura scientifica una maggiore varietà di protocolli di allenamento aumenta ulteriormente l'aderenza al programma di allenamento.

Nonostante questa metodica di allenamento WB-EMS abbia portato a dei risultati significativi, la metodica risulta avere criticità nelle modalità di applicazione considerando la ridotta possibilità di praticarla in quanto necessita di personale altamente qualificato e di strumentazioni costose e difficilmente reperibili nei centri fitness tradizionali.

Bibliografia

1. Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, et al. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study. *Arch Neurol* 2003;60: 387–92.
2. Aarsland, D.; Larsen, J.P.; Tandberg, E.; Laake, K. Predictors of nursing home placement in Parkinson's disease: A populationbased, prospective study. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2000, 48, 938–942.
3. Abbruzzese, G., Marchese, R., Avanzino, L., & Pelosin, E. (2015). Rehabilitation for Parkinson's disease: Current outlook and future challenges. *Parkinsonism&Related Disorders*, 22, Suppl 1, S60-S64.
4. Aguiar LP, da Rocha PA, Morris M. Therapeutic dancing for Parkinson's Disease. *Int J Gerontol* 2016;10:64-70.
5. Ahlskog JE, Muenter MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord.* 2001;16(3):448-458. doi:10.1002/mds.1090
6. Ahskog, J. E. (2011). Does vigorous exercise have a neuroprotective effect in Parkinson disease? *Neurology*, 77(3), 288–294. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e318225ab66>.
7. Alberti, K. G., Zimmet, P., and Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation. *Diabet. Med.* 23, 469–480. doi: 10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x
8. Alexander, G. D., MR; Strick, PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9, 357-381 (1986).
9. Alexander, G., Crutcher, MD; DeLong, MR. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor,, "prefrontal" and "limbic" functions. *Progress in brain research* 85, 119-146 (1990).
10. Aloe, L. and Calza, L.(2004) NGF and related molecules in health and disease. Elsevier Science, The Netherland. *Prog Brain Res* volume 146.
11. Aloe, L.; Bracci-Laudiero, L.; Alleva, E.; Lambiase, A.; Micera, A.; Tirassa, P. Emotional stress induced by parachute jumping enhances blood nerve growth factor levels and the distribution of nerve growth factor receptors in lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 10440–10444.
12. Altar CA. Neurotrophins and depression. *Trends in pharmacological sciences.* 1999; 20:59–62.
13. Alvarez-Erviti, L. et al. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains. *Arch Neurol* 67, 1464-1472, doi:10.1001/archneurol.2010.198 (2010).
14. Alves G, Larsen JP, Emre M, et al. Changes in motor subtype and risk for incident dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2006;21:1123–30.
15. Alves, G. et al. Is fatigue an independent and persistent symptom in patients with Parkinson disease? *Neurology* 63, 1908–1911 (2004).

16. Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Sanchez-Delgado, G., Robles-Gonzalez, L., Jurado-Fasoli, L., Ruiz, J. R., & Gutierrez, A. (2018). Whole-body electromyostimulation improves performance-related parameters in runners. *Frontiers in physiology*, 9, 1576.
17. Angelucci F, Gelfo F, De Bartolo P, Caltagirone C, Petrosini L. BDNF concentrations are decreased in serum and parietal cortex in immunotoxin 192 IgG-Saporin rat model of cholinergic degeneration. *Neurochemistry international*. 2011; 59:1–4.
18. Angevaren, M. et al. Physical activity and enhanced fitness to improve cognitive function in older people without known cognitive impairment. *Cochrane Database Syst. Rev.*, Issue 3. Art. No.: CD005381. doi:10.1002/14651858.pub3 (2008).
19. Anglade, P. et al. Apoptosis and autophagy in nigral neurons of patients with Parkinson's disease. *Histology and histopathology* 12, 25-31 (1997).
20. Angot, E., Steiner, J. A., Hansen, C., Li, J. Y. & Brundin, P. Are synucleinopathies prion-like disorders? *Lancet Neurol* 9, 1128-1138, doi:10.1016/S1474-4422(10)70213-1 (2010).
21. Arcolin, I., Pisano, F., Delconte, C., Godi, M., Schieppati, M., Mezzani, A., ... & Nardone, A. (2016). Intensive cycle ergometer training improves gait speed and endurance in patients with Parkinson's disease: a comparison with treadmill training. *Restorative neurology and neuroscience*, 34(1), 125-138.
22. Armstrong, M. J., & Okun, M. S. (2020). Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. *Jama*, 323(6), 548-560.
23. Badenhop, D.T.; Cleary, P.A.; Schaal, S.F.; Fox, E.L.; Bartels, R.L. Physiological Adjustments to Higher- Or Lower-Intensity Exercise in Elders. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1983, 15, 496–502.
24. Bajaj N, Hauser RA, Grachev ID. Clinical utility of dopamine transporter single photon emission CT (DaT-SPECT) with (123I) ioflupane in diagnosis of parkinsonian syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(11):1288-1295. doi:10.1136/jnnp-2012-304436
25. Balestrino R, Schapira AHV. Glucocerebrosidase and Parkinson Disease: Molecular, Clinical, and Therapeutic Implications. *The Neuroscientist* 2018; 24: 540–59.
26. Barichella, M. et al. Major nutritional issues in the management of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 24, 1881–1892 (2009).
27. Bartholomew, J., Ciccolo, J., Spirduso, W., Poon, L., & Chodzo-Zajko, W. (2008). Exercise, depression, and cognition. *Exercise and its mediating effects on cognition*.
28. Bastien, M., Poirier, P., Lemieux, I., and Despres, J. P. (2014). Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 56, 369–381. doi: 10.1016/j.pcad.2013.10.016
29. Berg D, Postuma RB, Adler CH, et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015;30(12):1600-1611. doi:10.1002/mds.26431
30. Bergman, H., Wichmann, T. & DeLong, M. R. Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 249, 1436-1438 (1990).

31. Bettioli SS, Rose TC, Hughes CJ, et al. Alcohol consumption and Parkinson's disease risk: a review of recent findings. *J Parkinsons Dis* 2015;5:425–42.
32. 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. *Journal of Aging Research*, 2013, 657508. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/657508>.
33. Blake, H. et al. How effective are physical activity interventions for alleviating depressive symptoms in older people? A systematic review. *Clin. Rehabil.* 23, 873–887 (2009).
34. Bloem BR, de Vries NM, Ebersbach G, et al. Nonpharmacological treatments for patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015;30:1504–20.
35. Bolam, J. P. & Pissadaki, E. K. Living on the edge with too many mouths to feed: why dopamine neurons die. *Mov Disord* 27, 1478-1483, doi:10.1002/mds.25135 (2012).
36. Bonifati, V. et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299, 256-259, doi:10.1126/science.1077209 (2003).
37. Borg, G.A.; Noble, B.J. Perceived exertion. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 1974, 2, 131–154.
38. Bose, A. & Beal, M. F. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry* 139 Suppl 1, 216-231, doi:10.1111/jnc.13731 (2016).
39. Bouaziz, W.; Vogel, T.; Schmitt, E.; Kaltenbach, G.; Geny, B.; Lang, P.O. Health Benefits of Aerobic Training Programs in Adults Aged 70 or Over: A Systematic Review. *Presse Med.* 2017, 46, 794–807.
40. Braak H, de Vos RA, Bohl J, et al. Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett* 2006;396:67–72.
41. Braak H, Del Tredici K, Ru'b U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003;24:197–211.
42. Broadhouse, K.M.; Singh, M.F.; Suo, C.; Gates, N.; Wen, W.; Brodaty, H.; Jain, N.; Wilson, G.C.; Meiklejohn, J.; Singh, N.; et al. Hippocampal Plasticity Underpins Long-Term Cognitive Gains from Resistance Exercise in MCI. *Neuroimage Clin.* 2020, 25, 102182.
43. Brown TP, Rumsby PC, Capleton AC, et al. Pesticides and Parkinson's disease— is there a link? *Environ Health Perspect* 2006;114:156–64.
44. Brown, R. G., Dittner, A., Findley, L., & Wessely, S. C. (2005). The Parkinson fatigue scale. *Parkinsonism & related disorders*, 11(1), 49-55.
45. Brundin, P., Li, J. Y., Holton, J. L., Lindvall, O. & Revesz, T. Research in motion: the enigma of Parkinson's disease pathology spread. *Nature reviews. Neuroscience* 9, 741-745, doi:10.1038/nrn2477 (2008).
46. Brundin, P., Melki, R. & Kopito, R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11, 301-307, doi:10.1038/nrm2873 (2010).
47. Buhmann, C. et al. Motor reorganization in asymptomatic carriers of a single mutant Parkin allele: a human model for presymptomatic parkinsonism. *Brain* 128, 2281–2290 (2005).

48. Burini, D. et al. A randomised controlled crossover trial of aerobic training versus Qigong in advanced Parkinson's disease. *Eura. Medicophys.* 42, 231–238 (2006).
49. Burre, J. The Synaptic Function of alpha-Synuclein. *Journal of Parkinson's disease* 5, 699-713, doi:10.3233/JPD-150642 (2015).
50. Cadore, E.L.; Moneo, A.B.B.; Mensat, M.M.; Muñoz, A.R.; Casas-Herrero, A.; Rodriguez-Mañas, L.; Izquierdo, M. Positive Effects of Resistance Training in Frail Elderly Patients with Dementia After Long-Term Physical Restraint. *Age* 2014, 36, 801–811.
51. Caffarra, P.; Vezzadini, G.; Dieci, F.; Zonato, F.; Venneri, A. A short version of the Stroop test: Normative data in an Italian population sample. *Nuova Riv. Neurol.* 2002, 12, 111–115.
52. Calabresi, P.; Picconi, B.; Parnetti, L.; Filippo, M.D. A Convergent Model for Cognitive Dysfunctions in Parkinson's Disease: The Critical Dopamine–Acetylcholine Synaptic Balance. *Lancet Neurol.* 2006, 5, 974–983.
53. Cali T, Ottolini D, Brini M. Mitochondria, calcium, and endoplasmic reticulum stress in Parkinson's disease. *BioFactors Oxf Engl* 2011; 37: 228–40.
54. Caltagirone, C., Gainotti, G., Carlesimo, G. A., & Parnetti, L. (1995). Batteria per la valutazione del deterioramento mentale: I. Descrizione di uno strumento di diagnosi neuropsicologica. *Archivio di Psicologia, Neurologia e Psichiatria.*
55. Cancela, J.M.; Varela, S.; Ayán, C. The “8-Foot Up and Go” Test as a physical performance measurement in Parkinson's disease: A pilot study. *Rev. Ecuat. Neurol.* 2013, 22, 20–23.
56. Canning CG, Allen NE, Dean CM, Goh L, Fung VSC (2012) Home-based treadmill training for individuals with
57. Canning CG, Sherrington C, Lord SR, Close JCT, Heritier S, Heller GZ, Howard K, Allen NE, Latt MD, Murray SM, O'Rourke SD, Paul SS, Song J, Fung VSC (2015) Exercise for falls prevention in Parkinson disease. *Neurology* 84, 304- 312.
58. Carmichael ST. Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: making waves. *Ann Neurol.* 2006;59(5):735–42. doi:10.1002/ana.20845.
59. Carvalho A, Barbirato D, Araujo N, et al. Comparison of strength training, aerobic training, and additional physical therapy as supplementary treatments for Parkinson's disease: pilot study. *Clin Interv Aging.* 2015;10:183–191.
60. Cebrian, C. et al. MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nat Commun* 5, 3633, doi:10.1038/ncomms4633 (2014).
61. Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Genetics, coffee consumption, and Parkinson's disease.
62. Chaldakov, G.N. (2011) The metabotropic NGF and BDNF: an emerging concept. *Archives Italiennes de Biologie* 149, 257-263.
63. Chassot, M.; Dussan-Sarria, J.A.; Sehn, F.C.; Deitos, A.; de Souza, A.; Vercelino, R.; Torres, I.L.; Fregni, F.; Caumo, W. Electroacupuncture analgesia is associated with increased serum brain-derived

- neurotrophic factor in chronic tension-type headache: A randomized, sham controlled, crossover trial. *BMC Complement. Altern. Med.* 2015, 15, 1–10.
64. Chaudhuri KR, Yates L, Martinez-Martin P. The non-motor symptom complex of Parkinson's disease: a comprehensive assessment is essential. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2005;5:275–283.
 65. Chen Y, Shen J, Qi G, et al. Potential therapeutic role of fibroblast growth factor 21 in neurodegeneration: Evidence for ameliorating parkinsonism via silent information regulator 2 homolog 1 and implication for gene therapy [published online ahead of print, 2020 Sep 23]. *Neuropharmacology.* 2020;181:108335.
 66. Chen, C. C. et al. Oscillatory pallidal local field potential activity correlates with involuntary EMG in dystonia. *Neurology* 66, 418-420, doi:10.1212/01.wnl.0000196470.00165.7d (2006).
 67. Chen, Y., Dicou, E. and Djakiew, D. (1997) Characterization of nerve growth factor precursor expression in rat spermatids and the trophic effects of nerve growth factor in the maintenance of Sertoli cell viability. *Mol. Cell. Endocrinol*, 127: 129–136.
 68. Chou KL, Stacy M, Simuni T, et al. The spectrum of “off” in Parkinson's disease: what have we learned over 40 years? *Parkinsonism Relat Disord.* 2018;51:9-16. doi:10.1016/j.parkreldis.2018.02.001
 69. Chu, Y. & Kordower, J. H. Age-associated increases of alpha-synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease? *Neurobiology of disease* 25, 134-149, doi:10.1016/j.nbd.2006.08.021 (2007).
 70. Chu, Y., Dodiya, H., Aebischer, P., Olanow, C. W. & Kordower, J. H. Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: relationship to alpha-synuclein inclusions. *Neurobiology of disease* 35, 385-398, doi:10.1016/j.nbd.2009.05.023 (2009).
 71. Chung, C. L. H., Thilarajah, S., & Tan, D. (2016). Effectiveness of resistance training on muscle strength and physical function in people with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Clinical rehabilitation*, 30(1), 11-23.
 72. Cilia R, Akpalu A, Sarfo FS, et al. The modern pre-levodopa era of Parkinson's disease: insights into motor complications from sub-Saharan Africa. *Brain.* 2014;137(Pt 10):2731-2742. doi:10.1093/brain/awu195
 73. Cilia, R. et al. Survival and dementia in GBA-associated Parkinson's disease: The mutation matters. *Ann Neurol* 80, 662-673, doi:10.1002/ana.24777 (2016).
 74. Clark, B.A. Tests for fitness in older adults: AAHPERD fitness task force. *J. Physical Educ. Recreat. Dance* 1989, 60, 66–71.
 75. Cockrell JR, Folstein MF: Mini-Mental State Examination (MMSE). *Psychopharmacol Bull* 1988; 24:689–692
 76. Colcombe, S. and Kramer, A. F. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol. Sci.* 14, 125–130 (2003).
 77. Colcombe, S. J. et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 61, 1166–1170 (2006).

78. Colcombe, S. J., Kramer, A. F., Erickson, K. I., Scalf, P., McAuley, E., Cohen, N. J., et al. (2004). Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 3316–3321. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0400266101>.
79. Colla, E., Jensen, P. H., Pletnikova, O., Troncoso, J. C., Glabe, C., & Lee, M. K. (2012). Accumulation of toxic α -synuclein oligomer within endoplasmic reticulum occurs in α -synucleinopathy in vivo. *Journal of Neuroscience*, 32(10), 3301-3305.
80. Collins SJ, Ahlskog JE, Parisi JE, Maraganore DM. Progressive supranuclear palsy: neuropathologically based diagnostic clinical criteria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995;58:167-173.
81. Cotman, C. W. et al. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 30, 464–472 (2007).
82. Cotman, C. W., and C. Engesser-Cesar. Exercise enhances and protects brain function. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 30:75–79, 2002.
83. Cotman, C.W.; Berchtold, N.C. Exercise: A Behavioral Intervention to Enhance Brain Health and Plasticity. *Trends Neurosci*. 2002, 25, 295–301.
84. Cruise, K. E. et al. Exercise and Parkinson's: benefits for cognition and quality of life. *Acta Neurol. Scand.* 2010).
85. Cruz-Jentoft, A.J.; Bahat, G.; Bauer, J.; Boirie, Y.; Bruyère, O.; Cederholm, T.; Cooper, C.; Landi, F.; Rolland, Y.; Sayer, A.A.; et al. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* 2019, 48, 16–31.
86. Cummings JL, ed. *Subcortical Dementia*. New York, NY: Oxford University Press; 1990.
87. Damier, P., Hirsch, E. C., Agid, Y. & Graybiel, A. M. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain* 122 (Pt 8), 1437-1448 (1999).
88. Daniel SE, de Bruin VMS, Lees AJ. The clinical and pathologic spectrum of Steele- Richardson-Olszewski syndrome (progressive supranuclear palsy): a reap- praisal. *Brain*. 1995;118:759-770.
89. David, F. J., Robichaud, J. A., Leurgans, S. E., Poon, C., Kohrt, W. M., Goldman, J. G., ... & Corcos, D. M. (2015). Exercise improves cognition in Parkinson's disease: The PRET-PD randomized, clinical trial. *Movement Disorders*, 30(12), 1657-1663.
90. David, F.J.; Robichaud, J.A.; Leurgans, S.E.; Poon, C.; Kohrt, W.M.; Goldman, J.G.; Comella, C.L.; Vaillancourt, D.E.; Corcos, D.M. Exercise improves cognition in Parkinson's disease: The PRET-PD randomized, clinical trial. *Mov. Disord.* 2015, 30, 1657–1663.
91. Davis RL, Wong SL, Carling PJ, Payne T, Sue CM, Bandmann O. Serum FGF-21, GDF-15, and blood mtDNA copy number are not biomarkers of Parkinson disease. *Neurol Clin Pract*. 2020;10(1):40-46.
92. de Camargo Smolarek, A., Ferreira, L. H. B., Mascarenhas, L. P. G., McAnulty, S. R., Varela, K. D., Dangui, M. C., ... & Souza-Junior, T. P. (2016). The effects of strength training on cognitive performance in elderly women. *Clinical interventions in aging*, 11, 749.

93. de Goede, C.J.T., Keus, S.H.J., Kwakkel, G., & Wagenaar, R.C. (2001). The effects of physical therapy in Parkinson's disease: A research synthesis. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 82, 509-515.
94. de Lange, F. P. et al. Increase in prefrontal cortical volume following cognitive behavioural therapy in patients with chronic fatigue syndrome. *Brain* 131, 2172–2180 (2008).
95. De Lau LML, Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006;5:525–38.
96. de Lima TA, Ferreira-Moraes R, Alves WMGDC, et al. Resistance training reduces depressive symptoms in elderly people with Parkinson disease: a controlled randomized study. *Scand J Med Sci Sports* 2019;29:1957-67.
97. De Oliveira, T.M.D.; Felício, D.C.; Filho, J.E.; Durigan, J.L.Q.; Fonseca, D.S.; José, A.; Oliveira, C.C.; Malaguti, C. Effects of whole-body electromyostimulation on function, muscle mass, strength, social participation, and falls-efficacy in older people: A randomized trial protocol. *PLoS ONE* 2021, 16, e0245809.
98. De Pablo-Fernández E, Lees AJ, Holton JL, Warner TT. Prognosis and neuropathologic correlation of clinical subtypes of Parkinson disease. *JAMA Neurol.* 2019;76(4):470-479. doi:10.1001/jamaneurol.2018.4377
99. Dehay, B. et al. Lysosomal dysfunction in Parkinson disease: ATP13A2 gets into the groove. *Autophagy* 8, 1389-1391, doi:10.4161/auto.21011 (2012).
100. Dehay, B. et al. Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30, 12535-12544, doi:10.1523/JNEUROSCI.1920-10.2010 (2010).
101. Dehay, M. Bourdenx, P. Gorry et al., "Targeting α -synuclein for treatment of Parkinson's disease:mechanistic and therapeutic considerations,,"*TheLancetNeurology*, vol. 14,no. 8, pp. 855– 866, 2015.
102. Den Brock MG, Van Dalen JW, van Gool WA, et al. Apathy in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2015;30:759–69.
103. Devi, L., Raghavendran, V., Prabhu, B. M., Avadhani, N. G. & Anandatheerthavarada, H. K. Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain. *The Journal of biological chemistry* 283, 9089-9100, doi:10.1074/jbc.M710012200 (2008).
104. Dhami P, Moreno S, DeSouza JF. New framework for rehabilitation-fusion of cognitive and physical rehabilitation: The hope for dancing. *Front Psychol* 2014;5:1478.
105. Dhungel, N. et al. Parkinson's disease genes VPS35 and EIF4G1 interact genetically and converge on alpha-synuclein. *Neuron* 85, 76-87, doi:10.1016/j.neuron.2014.11.027 (2015).
106. Di Nottia, M. et al. DJ-1 modulates mitochondrial response to oxidative stress: clues from a novel diagnosis of PARK7. *Clinical genetics*, doi:10.1111/cge.12841 (2016).

107. Dias, V., Junn, E. & Mouradian, M. M. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease* 3, 461-491, doi:10.3233/JPD-130230 (2013).
108. Dickson, D. W. et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol* 8, 1150-1157, doi:10.1016/S1474-4422(09)70238-8 (2009).
109. Diem Zangerl A, Seppi K, Wenning G, et al. Mortality in Parkinson's disease: a 20 year follow-up study. *Mov Disord* 2009;24:819–25. Thengannat MA, Jankovic J. Parkinson disease subtypes. *JAMA Neurol* 2014;71: 499–504.
110. Dinoff, A., Herrmann, N., Swardfager, W., and Lanctôt, K.L. 2017. The effect of acute exercise on blood concentrations of brain-derived neurotrophic factor in healthy adults: a meta-analysis. *Eur. J. Neurosci.* 46(1): 1635–1646. doi:10.1111/ejn.13603.
111. Dirkx, M. F. et al. The Cerebral Network of Parkinson's Tremor: An Effective Connectivity fMRI Study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 36, 5362-5372, doi:10.1523/JNEUROSCI.3634-15.2016 (2016).
112. Dishman, R. K. et al. Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)* 14, 345–356 (2006).
113. Dorsey, E.R.; Elbaz, A.; Nichols, E.; Abd-Allah, F.; Abdelalim, A.; Adsuar, J.C.; Ansha, M.G.; Brayne, C.; Choi, J.Y.J.; Collado-Mateo, D.; et al. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Neurol.* 2018, 17, 939–953.
114. Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *NatRev Neurol* 2012;8: 329–39.
115. Dougherty, R.J.; Boots, E.A.; Lindheimer, J.B.; Stegner, A.J.; Van Riper, S.; Edwards, D.F.; Gallagher, C.L.; Carlsson, C.M.; Rowley, H.A.; Bendlin, B.B.; et al. Fitness, Independent of Physical Activity Is Associated with Cerebral Blood Flow in Adults at Risk for Alzheimer's Disease. *Brain Imaging Behav.* 2019, 1–10.
116. Doyon, J., & Benali, H. (2005). Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(2), 161–167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2005.03.004>.
117. Doyon, J., Bellec, P., Amsel, R., Penhune, V., Monchi, O., Carrier, J., et al. (2009). Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 61–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.012>.
118. Duarte J, Olmos LMG, Mendoza A, et al. Natural history of Parkinson's disease in the province of Segovia: disability in a 20 years longitudinal study. *Neurodegener Dis* 2015;15:87–92.
119. Duchesne, C., Lungu, O., Nadeau, A., Robillard, M. E., Boré, A., Bobeuf, F., ... & Doyon, J. (2015). Enhancing both motor and cognitive functioning in Parkinson's disease: aerobic exercise as a rehabilitative intervention. *Brain and cognition*, 99, 68-77.
120. Dziechcia ` z, M.; Filip, R. Biological Psychological and Social Determinants of Old Age: Bio-Psycho-Social Aspects of Human Aging. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2014, 21, 835–838.

121. E. Mor, S. E. Ugras, M. J. Daniels, and H. Ischiropoulos, "Dynamic structural flexibility of α -synuclein," *Neurobiology of Disease*, vol. 88, pp. 66–74, 2016.
122. Edmonds, M. et al. Exercise therapy for chronic fatigue syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.*, Issue 3. Art. No.: CD003200.doi:10.1002/14651858.CD003200.pub2 (2004).
123. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*. 2003; 112:257–269.
124. Ekstrand, M. I. et al. Progressive parkinsonism in mice with respiratory-chain-deficient dopamine neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 1325-1330, doi:10.1073/pnas.0605208103 (2007).
125. Elbers, R. et al. Is impact of fatigue an independent factor associated with physical activity in patients with idiopathic Parkinson's disease? *Mov. Disord.* 24, 1512–1518 (2009).
126. Ellis, T.; Latham, N.K.; DeAngelis, T.R.; Thomas, C.A.; Saint-Hilaire, M.; Bickmore, T.W. Feasibility of a virtual exercise coach to promote walking in community-dwelling persons with Parkinson disease. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2013, 92, 472–481.
127. Emmanouilidou, E., Stefanis, L. & Vekrellis, K. Cell-produced alpha-synuclein oligomers are targeted to, and impair, the 26S proteasome. *Neurobiol Aging* 31, 953-968, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.07.008 (2010).
128. Enright, P.L. The six-minute walk test. *Respir. Care*. 2003, 48, 3.
129. Erickson KI, Miller DL, Roecklein KA. The aging hippocampus: interactions between exercise, depression, and BDNF. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. 2012; 18:82–97.
130. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108:3017–3022.
131. Eschbach, J. et al. Mutual exacerbation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha deregulation and alpha-synuclein oligomerization. *Ann Neurol* 77, 15-32, doi:10.1002/ana.24294 (2015).
132. Espay AJ, Morgante F, Merola A, et al. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: current and evolving concepts. *Ann Neurol*. 2018; 84(6):797-811. doi:10.1002/ana.25364
133. Expert-Panel (2001). Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285, 2486–2497. doi: 10.1001/jama.285.19.2486
134. Factor SA, Bennett A, Hohler AD, Wang D, Miyasaki JM (2016) Quality improvement in neurology: Parkinson disease update quality measurement set Executive summary. *Neurology* 86, 2278-2283.

135. Factor SA, McDonald WM, Goldstein FC. The role of neurotransmitters in the development of Parkinson's disease-related psychosis. *Eur J Neurol.* 2017;24(10):1244-1254. doi:10.1111/ene.13376.
136. Fahn S, Elton RL, UPDRS program members. Unified Parkinsons Disease Rating Scale. In: Fahn S, Marsden CD, Goldstein M, Calne DB, editors. *Recent developments in Parkinsons disease*, vol 2. Florham Park, NJ: Macmillan Healthcare Information; 1987. P 153–163.
137. Fang X, Han D, Cheng Q, et al. Association of levels of physical activity with risk of Parkinson disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Open Netw.* 2018;1(5):e182421. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.2421
138. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain.* 1991;114(Pt 5):2283-2301. doi:10.1093/brain/114.5. 2283
139. Ferretti, J. L., Cointy, G. R., Capozza, R. F., and Frost, H. M. (2003). Bone mass, bone strength, muscle-bone interactions, osteopenias and osteoporoses. *Mech. Ageing Dev.* 124, 269–279. doi: 10.1016/S0047-6374(02)00194-X
140. Fertl, E., Doppelbauer, A., & Auff, E. (1993). Physical activity and sports in patients suffering from Parkinson's disease in comparison with healthy seniors. *Journal of Neural Transmission*, 5, 157-161.
141. Filipovic, A., Kleinöder, H., Dörmann, U., and Mester, J. (2011). Electromyostimulation—a systematic review of the influence of training regimens and stimulation parameters on effectiveness in electromyostimulation training of selected strength parameters. *J. Strength Cond. Res.* 25, 3218–3238. doi: 10.1519/JSC.0b013e318212e3ce
142. Filipovic, A., Kleinoder, H., Dormann, U., and Mester, J. (2012). Electromyostimulation - a systematic review of the effects of different EMS methods on selected strength parameters in trained and elite athletes. *J. Strength Cond. Res.* 26, 2600–2614. doi: 10.1519/JSC.0b013e31823f2cd1
143. Fiorilli, G., Quinzi, F., Buonsenso, A., Casazza, G., Manni, L., Parisi, A., ... & di Cagno, A. (2021). A Single Session of Whole-Body Electromyostimulation Increases Muscle Strength, Endurance and proNGF in Early Parkinson Patients. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5499.
144. Fiorilli, G.; Iuliano, E.; Aquino, G.; Campanella, E.; Tsopani, D.; Di Costanzo, A.; Calcagno, G.; Di Cagno, A. Different consecutive training protocols to design an intervention program for overweight youth: A controlled study. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 2017, 10, 37.
145. Folstein, M.F.; Folstein, S.E.; Mchugh, R. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 1975, 12, 189–198.
146. Forbes, D.; Forbes, S.C.; Blake, C.M.; Thiessen, E.J.; Forbes, S. Exercise Programs for people with Dementia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015, CD006489.
147. Frank, M. J., Samanta, J., Moustafa, A. A. & Sherman, S. J. Hold your horses: impulsivity, deep brain stimulation, and medication in parkinsonism. *Science* 318, 1309-1312, doi:10.1126/science.1146157 (2007).

148. Fratiglioni, L.; Paillard-Borg, S.; Winblad, B. An Active and Socially Integrated Lifestyle in Late Life Might Protect Against Dementia. *Lancet Neurol.* 2004, 3, 343–353.
149. Friedman, J.H.; Brown, R.G.; Comella, C.; Garber, C.E.; Krupp, L.B.; Lou, J.S.; Marsh, L.; Nail, L.; Shulman, L.; Taylor, C.B. Working group on fatigue in Parkinson's disease. *Fatigue in Parkinson's disease: A review. Mov. Disord.* 2007, 22, 297–308.
150. Friedman, W.J. (2000) Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J. Neurosci.*, 20: 6340–6346.
151. Fritzsche, D., Freund, A., Schenk, S., Mellwig, K., Keinöder, H., Gummert, J., et al. (2010). Elektromyostimulation (EMS) bei kardiologischen Patienten. Wird das EMS-Training bedeutsam für die Sekundärprävention? *Herz* 35, 34–40. doi: 10.1007/s00059-010-3268-8
152. Fujimura, H., Altar, C.A., Chen, R., Nakamura, T., Nakahashi, T., Kambayashi, J., Sun, B. and Tandon, NN. (2002) Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 87, 728-734.
153. Funayama M, Hasegawa K, Kowa H et al. A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2–q13.1. *Ann Neurol* 2002; 51: 296–301.
154. Gaborit, B., Jacquier, A., Kober, F., Abdesselam, I., Cuisset, T., Boullu-Ciocca, S., et al. (2012). Effects of bariatric surgery on cardiac ectopic fat: lesser decrease in epicardial fat compared to visceral fat loss and no change in myocardial triglyceride content. *J. Am. Coll. Cardiol.* 60, 1381–1389. doi: 10.1016/j.jacc.2012.06.016.
155. Galbiati A, Verga L, Giora E, Zucconi M, Ferini-Strambi L. The risk of neurodegeneration in REM sleep behavior disorder: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Sleep Med Rev.* 2019;43:37-46. doi:10.1016/j.smrv.2018.09.008
156. Ganesan, M., Sathyaprabha, T.N., Gupta, A., & Pal, P.K. (2014). Effect of partial weight-supported treadmill gait training on balance in patients with Parkinson disease. *PM&R*, 6, 22-33.
157. Gao X, Simon KC, Schwarzschild MA, et al. Prospective study of statin use of risk of Parkinson disease. *Arch Neurol* 2012;69:380–4.
158. Gao, H. M. et al. Neuroinflammation and oxidation/nitration of alpha-synuclein linked to dopaminergic neurodegeneration. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28, 7687-7698, doi:10.1523/JNEUROSCI.0143-07.2008 (2008).
159. Garber, C.E.; Blissmer, B.; Deschenes, M.R.; Franklin, B.A.; Lamonte, M.J.; Lee, I.M.; Nieman, D.C.; Swain, D.P. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. *Med. Sci. Sport Exerc.* 2011, 43, 1334–1359.
160. Garcia-Ruiz PJ, Espay AJ. Parkinson disease: an evolutionary perspective. *Front Neurol.* 2017;8:157. doi:10.3389/fneur.2017.00157
161. Gardner RC, Burke JF, Nettiksimmons J, et al. Traumatic brain injury in later life increases risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2015;77:987–95.

162. Garre-Olmo, J. Epidemiology of Alzheimer's Disease and Other Dementias. *Rev. Neurol.* 2018, 66, 377-386.
163. Gasser T. Milestones in PD genetics. *Mov Disord* 2011;26(6):1042–8.
164. GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2018;17(11):939-953. doi:10.1016/S1474-4422(18) 30295-3
165. George, S. & Brundin, P. Immunotherapy in Parkinson's Disease: Micromanaging Alpha-Synuclein Aggregation. *Journal of Parkinson's disease* 5, 413-424, doi:10.3233/JPD-150630 (2015).
166. George, S., Rey, N. L., Reichenbach, N., Steiner, J. A. & Brundin, P. alpha-Synuclein: the long distance runner. *Brain pathology* 23, 350-357, doi:10.1111/bpa.12046 (2013).
167. Gibb WRG, Luthert PJ, Marsden CD. Corticobasal degeneration. *Brain.* 1989; 112:1171-1192.
168. Gießing, J. (2008). HIT-Hochintensitätstraining Arnsberg. Arnsberg: Novagenics-Verlag.
169. Gillies GE, Pienaar IS, Vohra S, et al. Sex differences in Parkinson's disease 2014. *Front Neuroendocrinol* 2014;35:370–84.
170. Goetz, C.G.; Poewe, W.; Rascol, O.; Sampaio, C.; Stebbins, G.T.; Counsell, C.; Giladi, N.; Holloway, R.G.; Moore, C.G.; Wenning, G.K.; et al. Movement disorder society task force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations the movement disorder society task force on rating scales for Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2004, 19, 1020–1028.
171. Gold, S. M., K. H. Schulz, S. Hartmann, et al. Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. *J. Neuroimmunol.* 138:99–105, 2003.
172. Golden, C.J. Identification of brain disorders by the Stroop Color and Word Test. *J. Clin. Psychol.* 1976, 32, 654–658.
173. Gondin, J.; Guette, M.; Ballay, Y.; Martin, A. Neural and muscular changes to detraining after electrostimulation training. *Europ. J Appl. Physiol.* 2006, 97, 165–173.
174. Goodwin, V. A. et al. The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov. Disord.* 23, 631–640 (2008).
175. Goodwin, V. A., Richards, S. H., Taylor, R. S., Taylor, A. H., & Campbell, J. L. (2008). The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders*, 23(5), 631–640. <http://dx.doi.org/10.1002/mds.21922>.
176. Gradinaru, V., Mogri, M., Thompson, K. R., Henderson, J. M. & Deisseroth, K. Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry. *Science* 324, 354-359, doi:10.1126/science.1167093 (2009).
177. Grassi-Oliveira R, Stein LM, Lopes RP, Teixeira AL, Bauer ME. Low plasma brain-derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated with verbal memory impairment in major depression--a preliminary report. *Biological psychiatry.* 2008; 64:281–285.

178. Gronek, P.; Haas, A.N.; Czarny, W.; Podstawski, R.; Delabary, M.doS.; Clark, C.C.; Boraczyński, M.; Tarnas, M.; Wycichowska, P.; Pawlaczyk, M.; et al. The mechanism of physical activity-induced amelioration of Parkinson's disease: A narrative review. *Aging Dis.* 2021, 12, 192.
179. Grützmacher, N. (2002). Electromyostimulationstraining - eine Innovative Methode zur Reduzierung Von Rückenbeschwerden unter Besonderer Berücksichtigung von der Optimierung Psychosozialer Messinstrumente. Master Thesis, University of Bayreuth.
180. Guzman, J. N. et al. Oxidant stress evoked by pacemaking in dopaminergic neurons is attenuated by DJ-1. *Nature* 468, 696-700, doi:10.1038/nature09536 (2010).
181. H. E. A. Reish and D. G. Standaert, "Role of α -synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease," *Journal of Parkinson's Disease*, vol. 5, no. 1, pp. 1–19, 2015.
182. Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, et al. Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:819–24.
183. Haaxma CA, Borm GF, van der Linden D, et al. Artistic occupations are associated with a reduced risk of Parkinson's disease. *J Neurol* 2015;262:2171–6.
184. Halliday, G. M., Holton, J. L., Revesz, T. & Dickson, D. W. Neuropathology underlying clinical variability in patients with synucleinopathies. *Acta Neuropathol* 122, 187-204, doi:10.1007/s00401-011-0852-9 (2011).
185. Harro, C.C., Shoemaker, M.J., Frey, O.J., Gamble, A.C., Haring, K.B., Karl, K.L., McDonald, J.D., Murray, C.J., Tomassi, E.M., Van Dyke, J.M., & Vanhaistma, R.J. (2014). The effects of speed-dependent treadmill training and rhythmic auditory-cued overground walking on gait function and fall risk in individuals with idiopathic Parkinson's disease: A randomized controlled trial. *NeuroRehabilitation*, 34, 557-572.
186. Haskell, W.L.; Lee, I.; Pate, R.R.; Powell, K.E.; Blair, S.N.; Franklin, B.A.; Macera, C.A.; Heath, G.W.; Thompson, P.D.; Bauman, A.; et al. Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation* 2007, 116, 1081–1093.
187. Hassanzadeh, K., and Rahimmi, A. (2018). Oxidative Stress and Neuroinflammation in the story of Parkinson's Disease: Could Targeting These Pathways Write a Good Ending?. *J. Cel Physiol* 234 (1), 23–32. doi:10.1002/jcp.26865
188. Hayes, S.M.; Alosco, M.L.; Hayes, J.P.; Cadden, M.; Peterson, K.M.; Allsup, K.; Forman, D.E.; Sperling, R.A.; Verfaellie, M. Physical Activity Is Positively Associated with Episodic Memory in Aging. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 2015, 21, 780–790.
189. Hellenbrand W, Seidler A, Boeing H, et al. Diet and Parkinson's disease. I: A possible role for the past intake of specific foods and food groups. Results from a self-administered food-frequency questionnaire in a case-control study. *Neurology* 1996;47:636–43.
190. Hely MA, Reid WG, Adena MA, et al. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord* 2008;23:837–44.

191. Hempstead, B. L. (2015). Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 126, 9.
192. Herlofson, K.; Kluger, B.M. Fatigue in Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci.* 2017, 374, 38–41.
193. Herman T, Giladi N, Hausdorff JM. Treadmill training for the treatment of gait disturbances in people with Parkinson's disease: A mini-review. *J Neural Transm (Vienna)* 2009;116:307-18.
194. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med.* 1965;58:295-300.
195. Hillman, C. H. et al. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 58–65 (2008).
196. Hirsch, E. C. & Hunot, S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol* 8, 382-397, doi:10.1016/S1474-4422(09)70062-6 (2009).
197. Hirsch, M. A. and Farley, B. G. Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease. *Eur. J. Phys. Rehabil. Med.* 45, 215–229 (2009).
198. Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 1967;17(5):427–42.
199. Horak, F.B. (2010). Postural compensation for vestibular loss and implications for rehabilitation. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 28, 57-68.
200. Howell MJ, Schenck CH. Rapid eye movement sleep behavior disorder and neurodegenerative disease. *JAMA Neurol.* 2015;72(6):707-712. doi:10.1001/jamaneurol.2014.4563
201. Hsieh, C. H. et al. Functional Impairment in Mito Degradation and Mitophagy Is a Shared Feature in Familial and Sporadic Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell*, doi:10.1016/j.stem.2016.08.002 (2016).
202. Huang T, Larsen KT, Ried-Larsen M, Moller NC, Andersen LB. The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: a review. *Scandinavian journal of medicine & science in sports.* 2014; 24:1–10.
203. Huang, Y.; Huang, C.; Yun, W. Peripheral BDNF/TrkB protein expression is decreased in Parkinson's disease but not in essential tremor. *J. Clin. Neurosci.* 2019, 63, 176–181.
204. Huang, Y.; Huang, C.; Zhang, Q.; Wu, W.; Sun, J. Serum BDNF discriminates Parkinson's disease patients with depression from without depression and reflect motor severity and gender differences. *J. Neurol.* 2021, 268, 1411–1418.
205. Huang, Y.; Yun, W.; Zhang, M.; Luo, W.; Zhou, X. Serum concentration and clinical significance of brain-derived neurotrophic factor in patients with Parkinson's disease or essential tremor. *J. Int. Med. Res.* 2018, 46, 1477–1485.
206. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. The clinical features of Parkinson's disease in 100 histologically proven cases. *Adv Neurol.* 1993;60:595-599.
207. Iacono, D. et al. Parkinson disease and incidental Lewy body disease: Just a question of time? *Neurology* 85, 1670-1679, doi:10.1212/WNL.0000000000002102 (2015).

208. Intlekofer, K.A., Berchtold, N.C., Malvaez, M., Carlos, A.J., McQuown, S.C., Cunningham, M.J., et al. 2013. Exercise and Sodium Butyrate Transform a Subthreshold Learning Event into Long-Term Memory via a Brain-Derived Neurotrophic factor-Dependent Mechanism. *Neuropsychopharmacology* 38(10): 2027–2034. Nature Publishing Group. doi:10.1038/npp.2013.104.
209. Isaacson SH, Fisher S, Gupta F, et al. Clinical utility of DaTscan™ imaging in the evaluation of patients with parkinsonism: a US perspective. *Expert Rev Neurother.* 2017;17(3):219-225. doi:10.1080/14737175.2017.1256205
210. Iuliano, E.; di Cagno, A.; Cristofano, A.; Angiolillo, A.; D'Aversa, R.; Ciccotelli, S.; Corbi, G.; Fiorilli, G.; Calcagno, G.; Di Costanzo, A. Physical exercise for prevention of dementia (EPD) study: Background, design and methods. *BMC Public Health* 2019, 19, 1–9.
211. Iuliano, E.; Fiorilli, G.; Aquino, G.; Di Costanzo, A.; Calcagno, G.; di Cagno, A. Twelve-week exercise influences memory complaint but not memory performance in older adults: A randomized controlled study. *J. Aging Phys. Act.* 2017, 25, 612–620.
212. Jankovic J, Kapadia AS. Functional decline in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2001;58:1611–5.
213. Jankovic, J. Parkinson's disease: Clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2008, 79, 368–376.
214. Janvin CC, Aarsland D, Larsen JP. Cognitive predictors of dementia in Parkinson's disease: a community-based, 4-year longitudinal study. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2005;18:149-154.
215. Jellinger KA. The neuropathologic diagnosis of secondary parkinsonian syndromes. *Adv Neurol.* 1996;69:293-303.
216. Jeong SM, Han K, Kim D, Rhee SY, Jang W, Shin DW. Body mass index, diabetes, and the risk of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2020;35(2):236-244.
217. Jones, C.J.; Rikli, R.E.; Beam, W.C. A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. *Res. Quart. Exerc. Sport* 1999, 70, 113–119.
218. Jones, C.J.; Rikli, R.E.; Max, J.; Noffal, G. The Reliability and validity of a chair sit-and-reach test as a measure of hamstring flexibility in older adults. *Res. Quart. Exerc. Sport* 1998, 69, 338–343.
219. Jones, S., Man, W. D., Gao, W., Higginson, I. J., Wilcock, A., and Maddocks, M. (2016). Neuromuscular electrical stimulation for muscle weakness in adults with advanced disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 10:CD009419. doi: 10.1002/14651858.CD009419.pub3
220. K. J. Inglis, D. Chereau, E. F. Brigham et al., "Polo-like kinase 2 (PLK2) phosphorylates α -synuclein at serine 129 in central nervous system," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 284, no. 5, pp. 2598–2602, 2009.
221. Kakoty V, K C S, Tang RD, Yang CH, Dubey SK, Taliyan R. Fibroblast growth factor 21 and autophagy: A complex interplay in Parkinson disease. *Biomed Pharmacother.* 2020;127:110145.
222. Kaplan, D. R., & Miller, F. D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current opinion in neurobiology*, 10(3), 381-391.

223. Karlsen K, Larsen JP, Tandberg E, Jørgensen K (1999) Fatigue in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 14, 237-241.
224. Karlsen, K. et al. Fatigue in patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 14, 237–241 (1999).
225. Karolkiewicz J, Michalak E, Pospieszna B, Deskur-Smielecka E, Nowak A, Pilaczynska-Szczesniak L. Response of oxidative stress markers and antioxidant parameters to an 8-week aerobic physical activity program in healthy, postmenopausal women. *Arch Gerontol Geriatr.* 2009;49(1):e67–71.
226. Katzenschlager R, Head J, Schraq A, et al. Fourteen-year final report of the randomized PDRG-UK trial comparing three initial treatments in PD. *Neurology* 2008; 71:474–80.
227. Kaushik, S. & Cuervo, A. M. Proteostasis and aging. *Nature medicine* 21, 1406-1415, doi:10.1038/nm.4001 (2015).
228. Keihanian, A., Arazi, H., & Kargarfard, M. (2019). Effects of aerobic versus resistance training on serum fetuin-A, fetuin-B, and fibroblast growth factor-21 levels in male diabetic patients. *Physiology International*, 106(1), 70-80.
229. Keihanian, A., Arazi, H., & Kargarfard, M. (2019). Effects of aerobic versus resistance training on serum fetuin-A, fetuin-B, and fibroblast growth factor-21 levels in male diabetic patients. *Physiology International*, 106(1), 70-80.
230. Kelly NA, Ford MP, Standaert DG, Watts RL, Bickel CS, Moellering DR, Tuggle SC, Williams JY, Lieb L, Windham ST, Bamman MM (2014) Novel, high-intensity exercise prescription improves muscle mass, mitochondrial function and physical capacity in individuals with Parkinson's disease. *J Appl Physiol* 116, 582-592.
231. Kemmler W, Bebenek M, Engelke K, Von Stengel S. Impact of whole-body electromyostimulation on body composition in elderly women at risk for sarcopenia: The Training and ElectroStimulation Trial (TEST-III). *Age (Dordr).* 2014; 36(1):395–406. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9575-2>
232. Kemmler W, Schlifka RJ, Mayhew L, Von Stengel S. Effects of whole-body electromyostimulation on resting metabolic rate, body composition, and maximum strength in postmenopausal women: The Training and ElectroStimulation Trial. *J Strength Cond Res.* 2010; 24(7):1880–7. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181ddaeec>
233. Kemmler W, Von Stengel S, Schwartz J, Mayhew L. Effect of whole-body electromyostimulation on energy expenditure during exercise. *J Strength Cond Res.* 2012; 26(1):240–5. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31821a3a11>
234. Kemmler, W., and Von Stengel, S. (2013). Whole-body electromyostimulation as a means to impact muscle mass and abdominal body fat in lean, sedentary, older female adults: subanalysis of the TEST-III trial. *Clin. Interv. Aging* 8, 1353–1364. doi: 10.2147/CIA.S52337
235. Kemmler, W., Birlauf, A., and Von Stengel, S. (2010a). Einfluss von Ganzkörper-Elektromyostimulation auf das Metabolische Syndrom bei älteren Männern mit metabolischem Syndrom. *Dtsch. Z. Sportmed.* 61, 117–123.

236. Kemmler, W., Froehlich, M., Von Stengel, S., and Kleinöder, H. (2016a). Whole-body electromyostimulation – the need for common sense! Rationale and Guideline for a Safe and Effective Training. *Dtsch. Z. Sportmed.* 67, 218–221. doi: 10.5960/dzsm.2016.246
237. Kemmler, W., Kohl, M., and von Stengel, S. (2016b). Effects of high intensity resistance training versus whole-body electromyostimulation on cardiometabolic risk factors in untrained middle aged males. A randomized controlled trial. *J. Sports Res.* 3, 44–55. doi: 10.18488/journal.90/2016.3.2/90.2.44.55
238. Kemmler, W., Schliffka, R., Mayhew, J. L., & von Stengel, S. (2010). Effects of whole-body electromyostimulation on resting metabolic rate, body composition, and maximum strength in postmenopausal women: the Training and ElectroStimulation Trial. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(7), 1880-1887.
239. Kemmler, W., Schliffka, R., Mayhew, J. L., and Von Stengel, S. (2010). Effects of whole-body-electromyostimulation on resting metabolic rate, anthropometric and neuromuscular parameters in the elderly. The Training and ElectroStimulation Trial (TEST). *J. Strength Cond. Res.* 24, 1880–1886. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181ddaeee
240. Kemmler, W., Teschler, M., and Von Stengel, S. (2015c). Effekt von ganzkörper-elektromyostimulation – A series of studies. *Osteologie* 23, 20–29. doi: 10.15653/TPG-160585
241. Kemmler, W., Teschler, M., Bebenek, M., and Von Stengel, S. (2015b). (Very) high Creatinkinase concentration after exertional whole-body electromyostimulation application: health risks and longitudinal adaptations. *Wien. Med. Wochenschr.* 165, 427–435. doi: 10.1007/s10354-015-0394-1
242. Kemmler, W., Teschler, M., Weissenfels, A., Bebenek, M., Fröhlich, M., Kohl, M., et al. (2016). Effects of whole-body electromyostimulation versus high-intensity resistance exercise on body composition and strength: a randomized controlled study. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2016:9236809. doi: 10.1155/2016/9236809
243. Kemmler, W., Weissenfels, A., Teschler, M., Willert, S., Bebenek, M., Shojaa, M., et al. (2017c). Whole-body electromyostimulation and protein supplementation favorably affect sarcopenic obesity in community-dwelling older men at risk. The Randomized Controlled FranSO Study. *Clin. Interv. Aging* 12, 1503–1513. doi: 10.2147/CIA.S137987
244. Kemmler, W.; Teschler, M.; Weissenfels, A.; Bebenek, M.; Von Stengel, S.; Kohl, M.; Freiburger, E.; Goisser, S.; Jakob, F.; Sieber, C.; et al. Whole-body electromyostimulation to fight sarcopenic obesity in community-dwelling older women at risk. Results of the randomized controlled FORMOSA-sarcopenic obesity study. *Osteo. Int.* 2016, 27, 3261–3270.
245. Kemmler, W.; Weissenfels, A.; Willert, S.; Shojaa, M.; von Stengel, S.; Filipovic, A.; Kleinöder, H.; Berger, J.; Fröhlich, M. Efficacy and safety of low frequency whole-body electromyostimulation (WB-EMS) to improve health-related outcomes in non-athletic adults. A systematic review. *Front. Physiol.* 2018, 9, 19.

246. Kenborg L, Rugbjerg K, Lee PC, et al. Head injury and risk for Parkinson disease: results from a Danish case-control study. *Neurology* 2015;84:1098–103.
247. Keus SHJ, Bloem BR, Hendriks EJM, Bredero-Cohen AB, Munneke M, on behalf of the Practice Recommendations Development Group (2007) Evidence-based analysis of physical therapy in Parkinson's disease with recommendations for practice and research. *Mov Disord* 22, 451-460.
248. Kharitonov, A.; Shiyanova, T.L.; Koester, A.; Ford, A.M.; Micanovic, R.; Galbreath, E.J.; Sandusky, G.E.; Hammond, L.J.; Moyers, J.S.; Owens, R.A., FGF-21 as a novel metabolic regulator. *Journal of Clinical Investigation*, 2005, 115, (6), 1627.
249. Kim HS, Cheon SM, Seo JW, et al. Nonmotor symptoms more closely relate to Parkinson's disease: comparison with normal elderly. *J Neurol Sci* 2013;324:70–3.
250. Kim, C. & Lee, S. J. Controlling the mass action of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry* 107, 303-316, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05612.x (2008).
251. King, A. C. et al. Moderate-intensity exercise and self-rated quality of sleep in older adults. A randomized controlled trial. *JAMA* 277, 32–37 (1997).
252. King, R. J., and Ajjan, R. A. (2017). Vascular risk in obesity: facts, misconceptions and the unknown. *Diab. Vasc. Dis. Res.* 14, 2–13. doi: 10.1177/1479164116675488
253. Kirk-Sanchez NJ, McGough EL. Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clin Interv Aging.* 2014;9: 51–62.
254. Klatka LA, Schiffer RB, Powers JM, Kazee AM. Incorrect diagnosis of Alzheimer's disease: a clinicopathologic study. *Arch Neurol.* 1996;53:35-42.
255. Knaepen, K., Goekint, M., Heyman, E. M., & Meeusen, R. (2010). Neuroplasticity—exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor. *Sports medicine*, 40(9), 765-801.
256. Koch, A. J., Pereira, R., and Machado, M. (2014). The creatine kinase response to resistance exercise. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 14, 68–77.
257. Kordower, J. H. et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain* 136, 2419-2431, doi:10.1093/brain/awt192 (2013).
258. Kouli A, Torsney KM, Kuan WL. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In: Stoker TB, Greenland JC, eds. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects* [Internet]. Brisbane, Australia: Codon Publications; 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536722/>. Accessed September 6, 2019. doi:10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch1
259. Krabbe KS, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007; 50:431–438.
260. Kramer, A.F.; Erickson, K.I.; Colcombe, S.J. Exercise, Cognition, and the Aging Brain. *Appl. Physiol.* 2006, 101, 1237–1242.

261. Krishnamurthi, N.; Fleury, J.; Belyea, M.; Shill, H.A.; Abbas, J.J. ReadySteady intervention to promote physical activity in older adults with Parkinson's disease: Study design and methods. *Contemp. Clin. Trials Commun.* 2020, 17, 100513.
262. Krishnan. Do nonmotor symptoms in Parkinson's disease differ from normal aging? *Mov Disord* 2011;26:2110–3.
263. Kuhn, A. A. et al. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses oscillatory beta activity in patients with Parkinson's disease in parallel with improvement in motor performance. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28, 6165-6173, doi:10.1523/JNEUROSCI.0282-08.2008 (2008).
264. Kuhn, A. A., Kupsch, A., Schneider, G. H. & Brown, P. Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *The European journal of neuroscience* 23, 1956-1960, doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04717.x (2006).
265. Kurtis MM, Rodriguez-Blazquez C, Martinez-Martin P, ELEG group. Relationship between sleep disorders and other nonmotor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2013;19:1152–5.
266. LaHue SC, Comella CL, Tanner CM. The best medicine? the influence of physical activity and inactivity on Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2016;31(10):1444-1454. doi:10.1002/mds.26728
267. Laitinen, L. V., Bergenheim, A. T. & Hariz, M. I. Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease. *Journal of neurosurgery* 76, 53-61, doi:10.3171/jns.1992.76.1.0053 (1992).
268. Lakoski, S. G., Cushman, M., Siscovick, D. S., Blumenthal, R. S., Palmas, W., Burke, G., et al. (2011). The relationship between inflammation, obesity and risk for hypertension in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J. Hum. Hypertens.* 25, 73–79. doi: 10.1038/jhh.2010.91
269. Lamberts, J. T., Hildebrandt, E. N. & Brundin, P. Spreading of alpha-synuclein in the face of axonal transport deficits in Parkinson's disease: a speculative synthesis. *Neurobiology of disease* 77, 276-283, doi:10.1016/j.nbd.2014.07.002 (2015).
270. Larson, E. B. et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann. Intern. Med.* 144, 73–81 (2006).
271. Lautenschlager, N. T. et al. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA* 300, 1027–1037 (2008).
272. Lauzé, M., Daneault, J. F., & Duval, C. (2016). The effects of physical activity in Parkinson's disease: a review. *Journal of Parkinson's disease*, 6(4), 685-698.
273. Leal LC, Abrahin O, Rodrigues RP, et al. Low-volume resistance training improves the functional capacity of older individuals with Parkinson's disease. *Geriatr Gerontol Int* 2019;19:635-40.

274. Lee, S.-Y. Lee, E.-N. Lee, C.-S. Chang, and S. R. Paik, “ α -synuclein exhibits competitive interaction between calmodulin and synthetic membranes,” *Journal of Neurochemistry*, vol. 82, no. 5, pp. 1007–1017, 2002.
275. Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson’s disease. *Lancet* 2009;373:2055–66.
276. Lema Tome, C. M. et al. Inflammation and alpha-synuclein's prion-like behavior in Parkinson's disease--is there a link? *Molecular neurobiology* 47, 561-574, doi:10.1007/s12035-012-8267-8 (2013).
277. Li, Q. et al. Therapeutic deep brain stimulation in Parkinsonian rats directly influences motor cortex. *Neuron* 76, 1030-1041, doi:10.1016/j.neuron.2012.09.032 (2012).
278. Lin, I.; Edison, B.; Mantri, S.; Albert, S.; Daeschler, M.; Kopil, C.; Marras, C.; Chahine, L.M. Triggers and alleviating factors for fatigue in Parkinson’s disease. *PLoS ONE* 2021, 16, e0245285.
279. Lindholm, B.; Hagell, P.; Hansson, O.; Nilsson, M.H. Factors associated with fear of falling in people with Parkinson’s disease. *BMC Neurol.* 2014, 14, 1–7.
280. Litvan I, Aarsland D, Adler C, et al. MDS task force on mild cognitive impairment in Parkinson’s disease: critical review of PD-MCI. *Mov Disord* 2011;26:1814–24.
281. Litvan I, Agid Y, Calne D, et al. Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology.* 1996;47:1-9.
282. Litvan I, Goetz CG, Jankovic J, et al. What is the accuracy of the clinical diagnosis of multiple system atrophy? A clinicopathologic study. *Arch Neurol.* 1997; 54:937-944.
283. Liu, C.J.; Marie, D.; Fredrick, A.; Bertram, J.; Utley, K.; Fess, E.E. Predicting hand function in older adults: Evaluations of grip strength, arm curl strength, and manual dexterity. *Aging Clin. Exp. Res.* 2017, 29, 753–760.
284. Liu, G. et al. Specifically neuropathic Gaucher's mutations accelerate cognitive decline in Parkinson's. *Ann Neurol* 80, 674-685, doi:10.1002/ana.24781 (2016).
285. Liu, Y., Deng, J., Liu, Y., Li, W., & Nie, X. (2021). FGF, Mechanism of Action, Role in Parkinson’s Disease, and Therapeutics. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1572.
286. Liu, Y., Deng, J., Liu, Y., Li, W., & Nie, X. (2021). FGF, Mechanism of Action, Role in Parkinson’s Disease, and Therapeutics. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1572.
287. Logan, S.L.; Gottlieb, B.H.; Maitland, S.B.; Meegan, D. The physical activity scale for the elderly (PASE) questionnaire; Does it predict physical health? *Int. J. Env. Res. Public Health* 2013, 10, 3967–3986.
288. Lopane, G. et al. The effect of a clinically practical exercise on levodopa bioavailability and motor response in patients with Parkinson disease. *Clin. Neuropharmacol.* 33, 254–256 (2010).
289. López-Otín, C.; Blasco, M.A.; Partridge, L.; Serrano, M.; Kroemer, G. The Hallmarks of Aging. *Cell* 2013, 153, 1194–1217.
290. Lotharius, J. & Brundin, P. Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and alpha-synuclein. *Nature reviews. Neuroscience* 3, 932-942, doi:10.1038/nrn983 (2002).

291. Louis ED, Goldman JE, Powers JM, Fahn S. Parkinsonian features of eight pathologically diagnosed cases of diffuse Lewy body disease. *Mov Disord.* 1995;10: 188-194.
292. Louis ED, Klatka LA, Liu Y, Fahn S. Comparison of extrapyramidal features in 31 pathologically confirmed cases of diffuse Lewy body disease and 34 pathologically confirmed cases of Parkinson's disease. *Neurology.* 1997;48:376-380.
293. Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nature reviews Neuroscience.* 2005; 6:603–614.
294. Lubbe, S. J. et al. Additional Rare Variant Analysis in Parkinson's Disease Cases with and Without Known Pathogenic Mutations: Evidence for Oligogenic Inheritance. *Human molecular genetics*, doi:10.1093/hmg/ddw348 (2016).
295. Luquin MR, Kulisevsky J, Martinez-Martin P, Mir P, Tolosa ES. Consensus on the definition of advanced Parkinson's disease: a neurologists-based Delphi study (CEPA Study). *Parkinsons Dis.* 2017; 2017:4047392. doi:10.1155/2017/4047392
296. Ma, B. et al. LRRK2 modulates microglial activity through regulation of chemokine (C-X3-C) receptor 1 -mediated signalling pathways. *Human molecular genetics*, doi:10.1093/hmg/ddw194 (2016).
297. Ma, Y.L., Wang, H.L., Wu, H.C., Wei, C.L. and Lee, E.H.Y. (1998) Brain-derived neurotrophic factor antisense oligonucleotide impairs memory retention and inhibits long-term potentiation in rats. *Neuroscience* 82, 957-967.
298. Macleod AD, Taylor KS, Counsell CE. Mortality in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;29(13):1615-1622. doi:10.1002/mds.25898
299. Maffiuletti, N.A.; Cometti, G.; Amiridis, I.G.; Martin, A.; Pousson, M.; Chatard, J. The effects of electromyostimulation training and basketball practice on muscle strength and jumping ability. *Int. J. Sports Med.* 2000, 21, 437–443.
300. Mahlknecht, P., Seppi, K. & Poewe, W. The Concept of Prodromal Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's disease* 5, 681-697, doi:10.3233/JPD-150685 (2015).
301. Mak MKY, Wong-Yu ISK. Exercise for Parkinson's disease. *Int Rev Neurobiol.* 2019;147:1-44.
302. Makela, J.; Tselykh, T.V.; Maiorana, F.; Eriksson, O.; Do, H.T.; Mudo, G.; Korhonen, L.T.; Belluardo, N.; Lindholm, D., Fibroblast growth factor-21 enhances mitochondrial functions and increases the activity of PGC-1alpha in human dopaminergic neurons via Sirtuin-1. *Springerplus*, 2014, 3, 2.
303. Mao, X. et al. Pathological alpha-synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3. *Science* 353, doi:10.1126/science.aah3374 (2016).
304. Marras C, Beck JC, Bower JH, et al; Parkinson's Foundation P4 Group. Prevalence of Parkinson's disease across North America. *NPJ Parkinsons Dis.* 2018;4:21. doi:10.1038/s41531-018-0058-0
305. Martin WE, Loewenson RB, Resch JA, Baker AB. Parkinson's disease: clinical analysis of 100 patients. *Neurology.* 1973;23:783-790.

306. Martínez-Martin P, Falup Pecurariu C, Odin P, et al. Gender-related differences in the burden of non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol* 2013;259: 1639–47.
307. Martínez-Martín P, Rodríguez-Blázquez C, Mario Alvarez, et al. Parkinson's disease severity levels and MDS-Unified Parkinson's Disease Rating Scale. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015;21(1):50-54.
308. Martínez-Martin P, Schapira AH, Stocchi F, et al. Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting; study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients. *Mov Disord* 2007;22:1623–9. *Parkinson J. An essay on the shaking palsy*. 1817.
309. Martínez-Martín, P., Rodríguez-Blázquez, C., Alvarez, M., Arakaki, T., Arillo, V. C., Chaná, P., ... & Merello, M. (2015). Parkinson's disease severity levels and MDS-Unified Parkinson's Disease Rating Scale. *Parkinsonism & related disorders*, 21(1), 50-54.
310. Martínez-Vicente, M. et al. Dopamine-modified alpha-synuclein blocks chaperone-mediated autophagy. *The Journal of clinical investigation* 118, 777-788, doi:10.1172/JCI32806 (2008).
311. Massy-Westropp, N.M.; Gill, T.K.; Taylor, A.W.; Bohannon, R.W.; Hill, C.L. Hand grip strength: Age and gender stratified normative data in a population-based study. *BMC Res. Notes* 2011, 4, 1–5.
312. Matinelli, M., Korpelainen, J.T., Korpelainen, R., Sotaniemi, K.A., Matinelli, V.M., & Myllylä, V.V. (2009). Mobility and balance in Parkinson's disease: A population-based study. *European Journal of Neurology*, 16, 105-111.
313. Mazzulli, J. R. et al. Gaucher disease glucocerebrosidase and alpha-synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 146, 37-52, doi:10.1016/j.cell.2011.06.001 (2011).
314. McAuley, E., Elavsky, S., Spirduso, W., Poon, L., & Chodzo-Zajko, W. (2008). Exercise, depression, and cognition. In *Exercise and its mediating effects on cognition*.
315. McCarter SJ, St. Louis EK, Boeve BF. REM sleep behavior disorder and REM sleep without atonia as an early manifestation of degenerative neurological disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2012;12:226.
316. McDaniel, J., Subudhi, A., & Martin, J.C. (2005). Torso stabilization reduces the metabolic cost of producing cycling power. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30, 433-441.
317. McGill, A.; Houston, S.; Lee, R.Y. Dance for Parkinson's: A new framework for research on its physical, mental, emotional, and social benefits. *Complement. Ther. Med*. 2014, 22, 426–432.
318. Mehrholz, J. et al. Treadmill training for patients with Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.*, Issue 1. Art no.:CD007830. doi:10.1002/14651858.CD007830.pub2 (2010).
319. Mehrholz, J., Friis, R., Kugler, J., Twork, S., Storch, A., & Pohl, M. (2010). Treadmill training for patients with Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 1, CD007830.
320. Mehta, S. H. et al. Sleep disorders associated with Parkinson's disease: role of dopamine, epidemiology, and clinical scales of assessment. *CNS Spectr*. 13, 6–11 (2008).
321. Melki, R. Role of Different Alpha-Synuclein Strains in Synucleinopathies, Similarities with other Neurodegenerative Diseases. *Journal of Parkinson's disease* 5, 217-227, doi:10.3233/JPD-150543 (2015).

322. Minakaki, G., Canneva, F., Chevessier, F., Bode, F., Menges, S., Timotius, I. K., ... & Klucken, J. (2019). Treadmill exercise intervention improves gait and postural control in alpha-synuclein mouse models without inducing cerebral autophagy. *Behavioural brain research*, 363, 199-215.
323. Miwa, H.; Miwa, T. Fatigue in patients with Parkinson's disease: Impact on quality of life. *Intern. Med.* 2011, 50, 1553–1558.
324. Moehle, M. S. & West, A. B. M1 and M2 immune activation in Parkinson's Disease: Foe and ally? *Neuroscience* 302, 59-73, doi:10.1016/j.neuroscience.2014.11.018 (2015).
325. Molteni, R., Z. Ying, and F. Gomez-Pinilla. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur. J. Neurosci.* 16: 1107–1116, 2002.
326. Mondini, S. (2021). L'assessment neuropsicologico: non solo test. *Giornale italiano di psicologia*, 48(1), 137-139.
327. Moretto A, Colosio C. The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: epidemiological studies and experimental data. *Toxicology* 2013;307: 24–34.
328. Morris R, Martini DN, Madhyastha T, et al. Overview of the cholinergic contribution to gait, balance and falls in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019;63:20-30. doi:10.1016/j.parkreldis.2019.02.017
329. Moscovich M, Boschetti G, Moro A, Teive HAG, Hassan A, Munhoz RP. Death certificate data and causes of death in patients with parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017;41:99-103. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.05.022
330. Mosharov, E. V. et al. Interplay between cytosolic dopamine, calcium, and alpha-synuclein causes selective death of substantia nigra neurons. *Neuron* 62, 218-229, doi:10.1016/j.neuron.2009.01.033 (2009).
331. Muhlack, S. et al. Exercise improves efficacy of levodopa in patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 22, 427–430 (2007).
332. Müller J, Myers J. Association between physical fitness, cardiovascular risk factors, and Parkinson's disease. *Eur J Prev Cardiol.* 2018. doi:10.1177/2047487318771168
333. Muller, T. and Muhlack, S. Effect of exercise on reactivity and motor behaviour in patients with Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 81, 747–753 (2010).
334. Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Progress in neurobiology.* 2001; 63:71–124.
335. Murphy TH, Corbett D. Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(12):861–72. doi:10.1038/nrn2735.
336. Muslimovic, D. et al. Cognitive profile of patients with newly diagnosed Parkinson disease. *Neurology* 65, 1239–1245 (2005).

337. Nakagawa, T., Tsuchida, A., Itakura, Y., Nonomura, T., Ono, M., Hirota, F., Inoue, T., Nakayama, C., Taiji, M. and Noguchi, H. (2000) Brain-derived neurotrophic factor regulates glucose metabolism by modulating energy balance in diabetic mice. *Diabetes* 49, 436-444.
338. Nalls, M. A. et al. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nature genetics* 46, 989-993, doi:10.1038/ng.3043 (2014).
339. Nambu, A. et al. Excitatory cortical inputs to pallidal neurons via the subthalamic nucleus in the monkey. *Journal of neurophysiology* 84, 289-300 (2000).
340. Natale, G. et al. Parkinson's disease and the gut: a well known clinical association in need of an effective cure and explanation. *Neurogastroenterol. Motil.* 20, 741-749 (2008).
341. Neeper, S. A., F. Gomez-Pinilla, J. Choi, and C. W. Cotman. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.* 726:49-56, 1996.
342. Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, Duncan PW, Judge JO, King AC, Macera CA, Castaneda-Sceppa C, American College of Sports Medicine, American Heart Association (2007) Physical activity and public health in older adults: Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation* 116, 1094-1105.
343. Ni M, Signorile JF, Balachandran A, Potiaumpai M (2016) Power training induced change in bradykinesia and muscle power in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 23, 37-44.
344. Nishimura, T.; Nakatake, Y.; Konishi, M.; Itoh, N., Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1492, (1), 203-206.
345. Noble, E.E., Billington, C.J., Kotz, C.M. and Wang, C. (2011) The lighter side of BDNF. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 300, 1053-1069.
346. Nocera JR, Amano S, Vallabhajosula S, Hass CJ. Tai chi exercise to improve non-motor symptoms of Parkinson's disease. *J Yoga Phys Ther* 2013;3:1208-31.
347. Nordstrom, U. et al. Progressive nigrostriatal terminal dysfunction and degeneration in the engrailed1 heterozygous mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease* 73, 70-82, doi:10.1016/j.nbd.2014.09.012 (2015).
348. Nowacka B, Lubinski W, Honczarenko K, et al. Ophthalmological features of Parkinson disease. *Med Sci Monit* 2014;20:2243-9.
349. Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1356-64.
350. Ouchi, Y. et al. Changes in dopamine availability in the nigrostriatal and mesocortical dopaminergic systems by gait in Parkinson's disease. *Brain* 124, 784-792 (2001).
351. Özbeyli D, Sarı G, Özkan N, et al. Protective effects of different exercise modalities in an Alzheimer's disease-like model. *Behav Brain Res.* 2017;328:159-177.
352. Özdal, M., and Bostancı, Ö. (2016). Effects of whole-body electromyostimulation with and without voluntary muscular contractions on total and regional fat mass of women. *Arch. Appl. Sci. Res.* 8, 75-79.

353. P. Karpinar, M. B. G. Balija, S. Kugler et al., “Pre-fibrillar α -synuclein variants with impaired B-structure increase neurotoxicity in parkinson’s disease models,” *The EMBO Journal*, vol. 28, no. 20, pp. 3256–3268, 2009.
354. P. Pasanen, L. Myllykangas, M. Siitonen et al., “A novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson’s disease-type pathology,” *Neurobiology of Aging*, vol. 35, no. 9, pp. 2180.e1–2180.e5, 2014.
355. Pandey A, Garg S, Khunger M, et al. Dose-response relationship between physical activity and risk of heart failure: ameta-analysis. *Circulation*. 2015;132(19):1786-1794. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015853
356. Pano-Rodriguez A, Beltran-Garrido JV, Hernandez-Gonzalez V, Reverter-Masia J. Effects of wholebody electromyostimulation on physical fitness in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Sensors (Basel)*. 2020; 8; 20(5). <https://doi.org/10.3390/s20051482>
357. Pano-Rodriguez A, Beltran-Garrido JV, Hernandez-Gonzalez V, Reverter-Masia J. Effects of wholebody electromyostimulation on health and performance: A systematic review. *BMC Complement Altern Med*. 2019; 19(1):87. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2485-9>
358. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14(1):7–23. doi:10.1038/nrn3379.
359. Parkinson Study Group. Phase II safety, tolerability and dose selection study of isradipine as a potential disease-modifying intervention in early Parkinson’s disease (STEADY-PD). *Mov Disord* 2013;28:1823–31.
360. Parkinson’s disease: A randomized controlled pilot trial. *Clin Rehabil* 26, 817-826.
361. Pedersen BK. The disease of physical inactivity-and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J Physiol* 2009; 587: 5559-5568.
362. Pelosin, E., Faelli, E., Lofrano, F., Avanzino, L., Marinelli, L., Bove, M., Ruggeri, P., & Abbruzzese, G. (2009). Effects of treadmill training on walking economy in Parkinson’s disease: A pilot study. *Neurological Sciences*, 30, 499-504.
363. Pennington S, Snell K, Lee M, Walker R. The cause of death in idiopathic Parkinson’s disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010;16(7):434-437. Doi:10.1016/j.parkreldis.2010.04.010
364. Peters, H. P. et al. Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. *Gut* 48, 435–439 (2001).
365. Petzinger GM, Walsh JP, Akopian G, et al. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *J Neurosci*. 2007;27 (20):5291-5300. doi:10.1523/JNEUROSCI.1069-07.2007
366. Petzinger, G. M., Fisher, B. E., McEwen, S., Beeler, J. A., Walsh, J. P., & Jakowec, M. W. (2013). Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson’s disease. *The Lancet Neurology*, 12(7), 716–726. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70123-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70123-6).

367. Pfeiffer RF. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2016;22(Suppl 1):S119–22.
368. Pickrell, A. M. & Youle, R. J. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron* 85, 257-273, doi:10.1016/j.neuron.2014.12.007 (2015).
369. Piercy, K.L.; Troiano, R.P.; Ballard, R.M.; Carlson, S.A.; Fulton, J.E.; Galuska, D.A.; George, S.M.; Olson, R.D. The Physical Activity Guidelines for Americans. *JAMA* 2018, 320, 2020–2028.
370. Pissadaki, E. K. & Bolam, J. P. The energy cost of action potential propagation in dopamine neurons: clues to susceptibility in Parkinson's disease. *Front Comput Neurosci* 7, 13, doi:10.3389/fncom.2013.00013 (2013).
371. Pistone, E.M.; Laudani, L.; Camillieri, G.; di Cagno, A.; Tomassi, G.; Macaluso, A.; Giombini, A. Effects of early whole-body vibration treatment on knee neuromuscular function and postural control after anterior cruciate ligament reconstruction: A randomized controlled trial. *J. Rehab. Med.* 2016, 48, 880–886.
372. Pluck, G.C. Apathy in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2002, 73, 636–642.
373. Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkman, J., ... & Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nature reviews Disease primers*, 3(1), 1-21.
374. Portugal, E.M.M.; Cevada, T.; Monteiro-Junior, R.S.; Guimarães, T.T.; Blois, C.; Deslandes, A.C. Neuroscience of exercise: From neurobiology mechanisms to mental health. *Neuropsychobiology* 2013, 68, 1–14.
375. Postuma, R.B.; Berg, D.; Stern, M.; Poewe, W.; Olanow, C.W.; Oertel, W.; Obeso, J.; Marek, K.; Litvan, I.; Lang, A.E.; et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease: MDS-PD clinical diagnostic criteria. *Mov. Disord.* 2015, 30, 1591–1601.
376. Puetz TW (2006) Physical activity and feelings of energy and fatigue: Epidemiological evidence. *Sports Med* 36, 767-780.
377. Qin, Y. X., Lam, H., Ferreri, S., and Rubin, C. (2010). Dynamic skeletal muscle stimulation and its potential in bone adaptation. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 10, 12–24.
378. Quadri M, Mandemakers W, Grochowska MM et al. LRP10 genetic variants in familial Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol* 2018; 17: 597–608.
379. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int.* 2006;49(4):387-392.
380. Radka, S.F., Holst, P.A., Fritsche, M. and Altar, C.A. (1996) Presence of brain-derived neurotrophic factor in brain and human and rat but not mouse serum detected by a sensitive and specific immunoassay. *Brain Research* 709, 122-130.
381. Rafferty MR, Schmidt PN, Luo ST, Li K, Marras C, Davis TL, Guttman M, Cubillos F, Simuni T (2017) Regular exercise, quality of life, and mobility in Parkinson's disease: A longitudinal analysis of national parkinson foundation quality improvement initiative data. *J Parkinsons Dis* 7, 193-202.

382. Rajput AH. Clinical features of tremor in extrapyramidal syndromes. In: Findley LJ, Koller WC, eds. *Handbook of Tremor Disorders*. New York, NY: Marcel Dekker; 1995:275-291.
383. Rajput AH. Prevalence of dementia in Parkinson's disease. In: Huber SJ, Cummings JL, eds. *Parkinson's Disease: Neurobehavioral Aspects*. New York, NY: Oxford University Press; 1992:119-131.
384. Ramazzina, I.; Bernazzoli, B.; Costantino, C. Systematic review on strength training in Parkinson's disease: An unsolved question. *Clin. Interv. Aging* 2017, 12, 619.
385. Ramirez A, Heimbach A, Gründemann J et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 2006; 38: 1184–91.
386. Ransohoff, R. M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* 353, 777-783, doi:10.1126/science.aag2590 (2016).
387. Rattenholl, A., Lilie, H., Grossmann, A., Stern, A., Schwarz, E. and Rudolph, R. (2001) The pro-sequence facilitates folding of human nerve growth factor from Escherichia coli inclusion bodies. *Eur. J. Biochem.*, 268: 3296–3303.
388. Rawson, K.S.; Cavanaugh, J.T.; Colon-Semenza, C.; DeAngelis, T.; Duncan, R.P.; Fulford, D.; LaValley, M.P.; Mazzoni, P.; Nordahl, T.; Quintiliani, L.M.; et al. Design of the WHIP-PD study: A phase II, twelve-month, dual-site, randomized controlled trial evaluating the effects of a cognitive-behavioral approach for promoting enhanced walking activity using mobile health technology in people with Parkinson-disease. *BMC Neurol.* 2020, 20, 1–13.
389. Recasens and B. Dehay, "Alpha-synuclein spreading in Parkinson's disease," *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 8, article 159, 2014.
390. Rees K, Stowe R, Patel S, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as diseasemodifying agents for Parkinson's disease: evidence from observational studies. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(11):CD008454.
391. Reichardt, L. F. (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1473), 1545-1564.
392. Reitan RM. Validity of the trail making test as an indicator of organic brain damage. *Percept Mot Skills.* 1958;8:271–6. <https://doi.org/10.2466/PMS.8.7.271-276>.
393. Rejeski, W.J.; Katula, J.; Rejeski, A.; Rowley, J.; Sipe, M. Strength training in older adults: Does desire determine confidence? *J. Gerontol. B. Psychol. Sci. Soc. Sci.* 2005, 60, 335–337.
394. Reuter, I. et al. The effect of exercise on pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa. *Mov. Disord.* 15, 862–868 (2000).
395. Rey A. *L'examen clinique en psychologie*. Paris: Presses universitaires de France; 1958.
396. Reynolds GO, Otto MW, Ellis TD, Cronin-Golomb A (2016) The therapeutic potential of exercise to improve mood, cognition, and sleep in Parkinson's disease. *Mov Disord* 31, 23-38.

397. RF (2013) Randomized clinical trial of 3 types of physical exercise for patients with Parkinson disease. *JAMA Neurol* 70, 183-190.
398. Riedel, O. et al. Frequency of dementia, depression, and other neuropsychiatric symptoms in 1,449 outpatients with Parkinson's disease. *J. Neurol.* 257, 1073–1082 (2010).
399. Riejnders JS, Ehrt U, Weber WE, et al. A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008;23:183–9.
400. Ritz B, Lee PC, Lassen CF, et al. Parkinson disease and smoking revisited: ease of quitting is an early sign of the disease. *Neurology* 2014;83:1396–402.
401. Rocha, E. M. et al. Progressive decline of glucocerebrosidase in aging and Parkinson's disease. *Annals of clinical and translational neurology* 2, 433-438, doi:10.1002/acn3.177 (2015).
402. Rodrigues de, P. F. et al. Impact of an exercise program on physical, emotional, and social aspects of quality of life of individuals with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 21, 1073–1077 (2006).
403. Rodríguez, J.G.; Gutiérrez, G.G. Definition and Prevalence of Mild Cognitive Impairment. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 2017, 52 (Suppl. S1), 3–6.
404. Rosenfeld, R.D., Zeni, L., Haniu, M., Talvenheimo, J., Radka, S.F., Bennett, L., Miller, J.A. and Welcher, A.A. (1995) Purification and identification of brain-derived neurotrophic factor from human serum. *Protein Expression and Purification* 6, 465-471.
405. Ruscheweyh R, Willemer C, Kruger K, et al. Physical activity and memory functions: an interventional study. *Neurobiol Aging* 2009; doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.08.001
406. Saint-Maurice, P.F.; Troiano, R.P.; Bassett, D.R., Jr.; Graubard, B.I.; Carlson, S.A.; Shiroma, E.J.; Fulton, J.E.; Matthews, C.E. Association of Daily Step Count and Step Intensity with Mortality Among US Adults. *JAMA* 2020, 323, 1151–1160.
407. Sakakibara R, Panicker J, Finazzi-Agro E, et al. A guideline for the management of bladder dysfunction in Parkinson's disease and other gait disorders. *NeuroUrol Urodyn* 2015. <http://dx.doi.org/10.1002/nau.22764>.
408. Saldıran, T.Ç.; Atıcı, E.; Rezaei, D.A.; Öztürk, Ö.; Uslu, B.; Özcan, B.A.; Okudan, B. The acute effects of different intensity whole-body vibration exposure on muscle tone and strength of the lower legs, and hamstring flexibility: A pilot study. *J. Sport Rehab.* 2021, 30, 235–241.
409. Saltychev M, Bärlund E, Paltamaa J, Katajapuu N, Laimi K. Progressive resistance training in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016;6:e008756.
410. Sampson, T. R. et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell* 167, 1469-1480 e1412, doi:10.1016/j.cell.2016.11.018 (2016).
411. Sardi, S. P. et al. Augmenting CNS glucocerebrosidase activity as a therapeutic strategy for parkinsonism and other Gaucher-related synucleinopathies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 3537-3542, doi:10.1073/pnas.1220464110 (2013).

412. Sarkar, S., Davies, J. E., Huang, Z., Tunnacliffe, A. & Rubinsztein, D. C. Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein. *The Journal of biological chemistry* 282, 5641-5652, doi:10.1074/jbc.M609532200 (2007).
413. Sauerbier, A., Jenner, P., Todorova, A. & Chaudhuri, K. R. Non motor subtypes and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 22 (Suppl. 1), S41–S46 (2016).
414. Scarpina, F., & Tagini, S. (2017). The stroop color and word test. *Frontiers in psychology*, 8, 557.
415. Schapansky, J., Nardozi, J. D., Felizia, F. & LaVoie, M. J. Membrane recruitment of endogenous LRRK2 precedes its potent regulation of autophagy. *Human molecular genetics* 23, 4201-4214, doi:10.1093/hmg/ddu138 (2014).
416. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2017;18(7):435-450. doi:10.1038/nrn.2017.62
417. Schapira, A. H. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Cell Death Differ* 14, 1261-1266, doi:10.1038/sj.cdd.4402160 (2007).
418. Schenkman, M., Hall, D.A., Bar´on, A.E., Schwartz, R.S., Mettler, P., & Kohrt, W.M. (2012). Exercise for people in early- or midstage Parkinson disease: A 16-month randomized controlled trial. *Physical Therapy*, 92, 1395-1410.
419. Schenkman, M.; Moore, C.G.; Kohrt, W.M.; Hall, D.A.; Delitto, A.; Comella, C.L.; Josbeno, D.A.; Christiansen, C.L.; Berman, B.D.; Kluger, B.M.; et al. Effect of high-intensity treadmill exercise on motor symptoms in patients with de novo Parkinson disease: A phase 2 randomized clinical trial. *JAMA Neurol.* 2018, 75, 219–226.
420. Schlenstedt, C.; Paschen, S.; Kruse, A.; Raethjen, J.; Weisser, B.; Deuschl, G. Resistance versus balance training to improve postural control in Parkinson's disease: A randomized rater blinded controlled study. *PLoS ONE* 2015, 17, doi:10.1371/journal.pone.0140584.
421. Schmidt HD, Duman RS. Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.* 2010; 35:2378–2391. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Hu L, Morris KS, et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus.* 2009; 19:1030–1039
422. Schmitz-Hubsch, T. et al. Qigong exercise for the symptoms of Parkinson's disease: a randomized, controlled pilot study. *Mov. Disord.* 21, 543–548 (2006).
423. Seaman, M. & Freeman, C. L. Analysis of the Retromer complex-WASH complex interaction illuminates new avenues to explore in Parkinson disease. *Communicative & integrative biology* 7, e29483, doi:10.4161/cib.29483 (2014).
424. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298 (2):R372-7

425. Seifert, T., Brassard, P., Wissenberg, M., Rasmussen, P., Nordby, P., Stallknecht, B 747 ., et al. 2010. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 298(2): R372–R377. doi:10.1152/ajpregu.00525.2009.
426. Shanahan J, Morris ME, Bhriain ON, Saunders J, Clifford AM. Dance for people with Parkinson disease: What is the evidence telling us? *Arch Phys Med Rehabil* 2015;96:141-53.
427. Shih, C.H.; Moore, K.; Browner, N.; Sklerov, M.; Dayan, E. Physical Activity mediates the association between striatal dopamine transporter availability and cognition in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2019, 62, 68–72.
428. Shu HF, Yang T, Yu SX, Huang HD, Jiang LL, Gu JW, et al. Aerobic exercise for Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One* 2014;9:e100503.
429. Shulman LM, Katzel LI, Ivey FM, et al. Randomized clinical trial of 3 types of physical exercise for patients with Parkinson disease. *JAMA Neurol* 2013;70:183–90.
430. Shulman LM, Katzel LI, Ivey FM, Sorkin JD, Favors K, Anderson KE, Smith BA, Reich SG, Weiner WJ, Macko RF (2013) Randomized clinical trial of 3 types of physical exercise for patients with Parkinson disease. *JAMA Neurol* 70, 183-190.
431. Shulman LM, Katzel LI, Ivey FM, Sorkin JD, Favors K, Anderson KE, Smith BA, Reich SG, Weiner WJ, Macko
432. Sidransky, E. et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *The New England journal of medicine* 361, 1651-1661, doi:10.1056/NEJMoa0901281 (2009).
433. Silva-Batista C, de Brito LC, Corcos DM, Roschel H, de Mello MT, Piemonte MEP, et al. Resistance training improves sleep quality in subjects with moderate Parkinson's disease. *J Strength Cond Res* 2017;31:2270-7.
434. Smith, P. J., Blumenthal, J. A., Hoffman, B. M., Cooper, H., Strauman, T. A., Welsh- Bohmer, K., et al. (2010). Aerobic exercise and neurocognitive performance: A meta-analytic review of randomized controlled trials. *Psychosomatic Medicine*, 72(3), 239–252. <http://dx.doi.org/10.1097/PSY.0b013e3181d14633>.
435. Soldner, F. et al. Parkinson-associated risk variant in distal enhancer of alpha-synuclein modulates target gene expression. *Nature* 533, 95-99, doi:10.1038/nature17939 (2016).
436. Soligo, M.; Nori, S.L.; Proto, V.; Florenzano, F.; Manni, L. Acupuncture and neurotrophin modulation. *Int. Rev. Neurobiol.* 2013, 111, 91–124.
437. Soligo, M.; Proto, V.; Florenzano, F.; Bracci-Laudiero, L.; De Benedetti, F.; Chiaretti, A.; Manni, L. The mature/pro nerve growth factor ratio is decreased in the brain of diabetic rats_ Analysis by Elisa methods. *Brain Res.* 2015, 1624, 455–468.
438. Song R, Grabowska W, Park M, Osypiuk K, Vergara-Diaz GP, Bonato P, et al. The impact of tai chi and qigong mind-body exercises on motor and non-motor function and quality of life in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Parkinsonism Relat Disord* 2017;41:3-13.

439. Sossi, V. et al. Changes of dopamine turnover in the progression of Parkinson's disease as measured by positron emission tomography: their relation to disease-compensatory mechanisms. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 24, 869-876, doi:10.1097/01.WCB.0000126563.85360.75 (2004).
440. Sossi, V. et al. Dopamine turnover increases in asymptomatic LRRK2 mutations carriers. *Mov Disord* 25, 2717-2723, doi:10.1002/mds.23356 (2010).
441. Spielman LJ, Gibson DL, Klegeris A. Unhealthy gut, unhealthy brain: The role of the intestinal microbiota in neurodegenerative diseases. *Neurochem Int* 2018; 120: 149–63.
442. Spirduso, W., Francis, K., & MacRae, P. (2005). *Physical dimensions of aging: Human kinetics*, Ill, USA.
443. Stallibrass, C. et al. Randomized controlled trial of the Alexander technique for idiopathic Parkinson's disease. *Clin. Rehabil.* 16, 695–708 (2002).
444. Steele, J. W. et al. Latrepirdine stimulates autophagy and reduces accumulation of alpha-synuclein in cells and in mouse brain. *Molecular psychiatry* 18, 882-888, doi:10.1038/mp.2012.115 (2013).
445. Stener-Victorin, E.; Lundeborg, T.; Cajander, S.; Aloe, L.; Manni, L.; Waldenstrom, U.; Janson, P.O. Steroid-induced polycystic ovaries in rats: Effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve growth factor (NGF), and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands, and the central nervous system. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2003, 1, 33.
446. Stephenson, R. et al. Premotor Parkinson's disease: clinical features and detection strategies. *Mov. Disord.* 24 (Suppl. 2), S665–S670 (2009).
447. Stocchi F, Barbato L, Nordera G, et al. Sleep disorders in Parkinson's disease. *J Neurol* 1998;245(Supp 1):S15–8.
448. Stuckenschneider, T., Askew, C. D., Meneses, A. L., Baake, R., Weber, J., & Schneider, S. (2019). The effect of different exercise modes on domain-specific cognitive function in patients suffering from Parkinson's disease: a systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Parkinson's Disease*, 9(1), 73-95.
449. Sung VW, Nicholas AP. Nonmotor symptoms of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 2013;31:1–16.
450. Suomalainen, A.; Elo, J.M.; Pietilainen, K.H.; Hakonen, A.H.; Sevastianova, K.; Korpela, M., et al. FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *Lancet Neurol*, 2011, 10, (9), 806-818.
451. Surmeier, D. J. et al. Calcium and Parkinson's disease. *Biochemical and biophysical research communications*, doi:10.1016/j.bbrc.2016.08.168 (2016).
452. Surmeier, D. J., Guzman, J. N., Sanchez-Padilla, J. & Schumacker, P. T. The role of calcium and mitochondrial oxidant stress in the loss of substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Neuroscience* 198, 221-231, doi:10.1016/j.neuroscience.2011.08.045 (2011).
453. Suwijn SR, van Boheemen CJ, de Haan RJ, Tissingh G, Booij J, de Bie RM. The diagnostic accuracy of dopamine transporter SPECT imaging to detect nigrostriatal cell loss in patients with

- Parkinson's disease or clinically uncertain parkinsonism: a systematic review. *EJNMMI Res.* 2015;5:12. doi:10.1186/s13550-015-0087-1
454. Tambosco L, Percebois-Macadré L, Rapin A, Nicomette-Bardel J, Boyer FC. Effort training in Parkinson's disease: A systematic review. *Ann Phys Rehabil Med* 2014;57:79-104.
455. Tanaka, K. et al. Benefits of physical exercise on executive functions in older people with Parkinson's disease. *Brain Cogn.* 69, 435–441 (2009).
456. Tandberg E, Larsen JP, Aarsland D, Cummings JL. The occurrence of depression in Parkinson's disease: a community-based study. *Arch Neurol.* 1996;53: 175-179.
457. Tang, F. L. et al. VPS35 in Dopamine Neurons Is Required for Endosome-to-Golgi Retrieval of Lamp2a, a Receptor of Chaperone-Mediated Autophagy That Is Critical for alpha-Synuclein Degradation and Prevention of Pathogenesis of Parkinson's Disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 35, 10613-10628, doi:10.1523/JNEUROSCI.0042-15.2015 (2015).
458. Tanik, S. A., Schultheiss, C. E., Volpicelli-Daley, L. A., Brunden, K. R. & Lee, V. M. Lewy body-like alpha-synuclein aggregates resist degradation and impair macroautophagy. *The Journal of biological chemistry* 288, 15194-15210, doi:10.1074/jbc.M113.457408 (2013).
459. Tanimura Y, Aoi W, Takanami Y, et al. Acute exercise increases fibroblast growth factor 21 in metabolic organs and circulation. *Physiol Rep.* 2016;4(12):e12828.
460. Tanner CM, Goldman SM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 1996; 14:317–35.
461. Teschler, M., Weissenfels, A., Bebenek, M., Frohlich, M., Kohl, M., Von Stengel, S., et al. (2016). Very high creatine kinase CK levels after WB_EMS. Are there implications for health. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 9, 22841–22850. doi: 10.1139/apnm-2017-0602
462. Teschler, M., Weißenfels, A., Von Stengel, S., and Kemmler, W. (2015). Ganzkörper-Elektromyostimulation (WB-EMS) und Kreatinkinase (CK) – facts over philosophy. *Dtsch. Z. Sportmed.* 7/8:194.
463. Thacker EL, Chen H, Patel AV, McCullough ML, Calle EE, Thun MJ, Schwarzschild MA, Ascherio A (2008) Recreational physical activity and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord* 23, 69-74.
464. The Parkinson Study Group SURE-PD Investigators, Schwarzschild MA, Ascherio A, et al. Inosine to increase serum and CSF urate in Parkinson disease: a randomized, placebo controlled trial. *JAMA Neurol* 2013;71:141–59.
465. Thoenen, H. (1995) Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 27, 593-598.
466. Tidman, M.; Skotzke, E. Effects of a community-based exercise program on mobility, balance, cognition, sleep, activities of daily living, and quality of life in PD: A pilot study. *Neurodegener. Dis. Man.* 2017, 10, 27–39.
467. Tillerson JL, Caudle WM, Reverón ME, Miller GW. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2003;119(3):899-911. doi:10.1016/S0306-4522(03)00096-4

468. Tinetti, E.; Williams, T.F.; Mayewski, R. Fall risk index for elderly patients based on number of chronic disabilities. *Am. J. Med.* 1986, 80, 6.
469. Tomlinson, C.L., Patel, S., Meek, C., Herd, C.P., Clarke, C.E., Stowe, R., Shah, L., Sackley, C.M., Deane, K.H., Wheatley, K., & Ives, N. (2013). Physiotherapy versus placebo or no intervention in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 9, CD002817.
470. Tosserams, A.; de Vries, N.M.; Bloem, B.R.; Nonnekes, J. Multidisciplinary care to optimize functional mobility in Parkinson disease. *Clin. Geriatr. Med.* 2020, 36, 159–172.
471. Tsuchida, A., Nonomura, T., Nakagawa, T., Itakura, Y., Ono-Kishino, M., Yamanaka, M., Sugaru, E., Taiji, M. and Noguchi, H. (2002) Brain-derived neurotrophic factor ameliorates lipid metabolism
472. Turcano P, Mielke MM, Bower JH, et al. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: a population-based cohort study. *Neurology.* 2018; 91(24):e2238-e2243. doi:10.1212/WNL.0000000000006643
473. Twelves, D., Perkins, K. S. & Counsell, C. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Mov Disord* 18, 19-31, doi:10.1002/mds.10305 (2003).
474. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2017;124(8):901-905.
475. Tyson, T., Steiner, J. A. & Brundin, P. Sorting out release, uptake and processing of alpha-synuclein during prion-like spread of pathology. *Journal of neurochemistry*, doi:10.1111/jnc.13449 (2015).
476. Uc EY, Doerschug KC, Magnotta V, Dawson JD, Thomsen TR, Kline JN, et al. Phase I/II randomized trial of aerobic exercise in Parkinson disease in a community setting. *Neurology* 2014;83:413-25.
477. Uhrbrand A, Stenager E, Pedersen MS, Dalgas U. Parkinson's disease and intensive exercise therapy – A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Neurol Sci* 2015;353:9-19.
478. Valkovic P, Minar M, Singliarova H, et al. Pain in Parkinson's disease: a cross-sectional study of its prevalence, types, and relationship to depression and quality of life. *PLoS One* 2015;10(8):e0136541.
479. van Buuren, F., Mellwig, K. P., Frund, A., Bogunovic, N., Oldenburg, O., Kottmann, T., et al. (2014). Electromyostimulation: verbesserung von Lebensqualität, Sauerstoffaufnahme und linksventrikulärer Funktion bei chronischer Herzinsuffizienz. *Rehabilitation* 53, 321–326. doi: 10.1055/s-0033-1358734
480. van Buuren, F., Mellwig, K. P., Prinz, C., Körber, B., Fründ, A., Fritzsche, D., et al. (2013). Electrical myostimulation improves left ventricular function and peak oxygen consumption in patients with chronic heart failure: results from the exEMS study comparing different stimulation strategies. *Clin. Res. Cardiol.* 102, 523–534. doi: 10.1007/s00392-013-0562-5.
481. Van Nimwegen, M.; Speelman, A.D.; Overeem, S.; Deeg, D.J.H.; Borm, G.F.; Bloem, B.R.; Munneke, M. Physical inactivity in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 2011, 258, 2214–2221.

482. van Nuenen, B. F. et al. Heterozygous carriers of a Parkin or PINK1 mutation share a common functional endophenotype. *Neurology* 72, 1041–1047 (2009).
483. Van Praag, H., B. R. Christie, T. J. Sejnowski, and F. H. Gage. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96:13427–13431, 1999.
484. Vatter, J. (2010). Elektrische Muskelstimulation als Ganzkörpertraining - Multicenterstudie zum Einsatz von Ganzkörper-EMS im Fitness-Studio. München: AVM-Verlag
485. Vekrellis, K., Xilouri, M., Emmanouilidou, E., Rideout, H. J. & Stefanis, L. Pathological roles of alpha-synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol* 10, 1015-1025, doi:10.1016/S1474-4422(11)70213-7 (2011).
486. Vilarino-Guell, C. et al. VPS35 mutations in Parkinson disease. *American journal of human genetics* 89, 162-167, doi:10.1016/j.ajhg.2011.06.001 (2011).
487. Volpicelli-Daley, L. A. et al. G2019S-LRRK2 Expression Augments alpha-Synuclein Sequestration into Inclusions in Neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 36, 7415-7427, doi:10.1523/JNEUROSCI.3642-15.2016 (2016).
488. Von Stengel, S., Bebenek, M., Engelke, K., and Kemmler, W. (2015). Whole-body electromyostimulation to fight osteopenia in elderly females: the randomized controlled training and electrostimulation trial (TEST-III). *J. Osteoporosis* 2015:643520. doi: 10.1155/2015/643520
489. Voss, M. W., Nagamatsu, L. S., Liu-Ambrose, T., & Kramer, A. F. (2011). Exercise, brain, and cognition across the life span. *Journal of Applied Physiology*, 111(5), 1505–1513. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00210.2011>.
490. Voss, M. W., Prakash, R. S., Erickson, K. I., Basak, C., Chaddock, L., Kim, J. S., et al. (2010). Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2. <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2010.00032>.
491. Voss, M.; Prakash, R.S.; Erickson, K.I.; Basak, C.; Chaddock, L.; Alves, H.; Heo, S.; Szabo, A.N.; White, S.M.; Wójcicki, T.R.; et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. *Front. Aging Neurosci.* 2010, 2, 32.
492. Wahl, D.; Solon-Biet, S.M.; Cogger, V.C.; Fontana, L.; Simpson, S.J.; Le Couteur, D.G.; Ribeiro, R.V. Aging, Lifestyle and Dementia. *Neurobiol. Dis.* 2019, 130, 104481.
493. Wahl, P.; Hein, M.; Achtzehn, S.; Bloch, W.; Mester, J. Acute effects of superimposed electromyostimulation during cycling on myokines and markers of muscle damage. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.* 2015, 15, 53–59.
494. Wales, P., Pinho, R., Lazaro, D. F. & Outeiro, T. F. Limelight on alpha-synuclein: pathological and mechanistic implications in neurodegeneration. *Journal of Parkinson's disease* 3, 415-459, doi:10.3233/JPD-130216 (2013).
495. Walton, C.C., Shine, J.M., Mowszowski, L., Naismith, S.L., & Lewis, S.J. (2014). Freezing of gait in Parkinson's disease: Current treatments and the potential role for cognitive training. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 32, 411-422.

496. Wang, C., Zhao, C., Li, D., Tian, Z., Lai, Y., Diao, J., & Liu, C. (2016). Versatile structures of α -synuclein. *Frontiers in molecular neuroscience*, 48.
497. Warabi, T.; Noda, H.; Yanagisawa, N.; Tashiro, K.; Shindo, R. Changes in sensorimotor function associated with the degree of bradykinesia of Parkinson's disease. *Brain* 1986, 109, 1209–1224.
498. Washburn, R.A.; McAuley, E.; Katula, J.; Mihalko, S.L.; Boileau, R.A. The physical activity scale for the elderly (PASE): Evidence for validity. *J Clin Epidemiol.* 1999, 52, 643–651.
499. Watanabe, K.; Yoshida, T.; Ishikawa, T.; Kawade, T.; Moritani, T. Effect of the combination of whole-body neuromuscular electrical stimulation and voluntary exercise on metabolic responses in human. *Front. Physiol.* 2019, 10, 8.
500. Wenning GK, Ben-Shlomo Y, Magalhães M, Daniel SE, Quinn NP. Clinicopathological study of 35 cases of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1995;58:160-166.
501. Whiteman AS, Young DE, He X, Chen TC, Wagenaar RC, Stern CE, et al. Interaction between serum BDNF and aerobic fitness predicts recognition memory in healthy young adults. *Behavioural brain research.* 2014; 259:302–312.
502. Wiborg, J. F., Koop, H., Stulemeijer, M. & Bleijenberg, G. How does cognitive behaviour therapy reduce fatigue in patients with chronic fatigue syndrome? The role of physical activity. *Psychol. Med.* 40, 1281-1287 (2010).
503. Wickremaratchi MM, Knipe MD, Sastry BS, et al. The motor phenotype of Parkinson's disease in relation to age at onset. *Mov Disord* 2011;26:457–63.
504. Williams ET, Chen X, Moore DJ. VPS35, the Retromer Complex and Parkinson's Disease. *J Park Dis* 2017; 7: 219–33.
505. Williams-Gray CH, Mason SL, Evans JR, et al. The CamPaIGN study of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;84(11): 1258-1264. doi:10.1136/jnnp-2013-305277
506. Windels, F., Thevathasan, W., Silburn, P. & Sah, P. Where and what is the PPN and what is its role in locomotion? *Brain* 138, 1133-1134, doi:10.1093/brain/awv059 (2015).
507. Winge K. Lower urinary tract dysfunction in patients with parkinsonism and other neurodegenerative disorders. *Handb Clin Neurol* 2015;130:335–56.
508. Winslow, A. R. et al. alpha-Synuclein impairs macroautophagy: implications for Parkinson's disease. *The Journal of cell biology* 190, 1023-1037, doi:10.1083/jcb.201003122 (2010).
509. Winward, C.; Sackley, C.; Meek, C.; Izadi, H.; Barker, K.; Wade, D.; Dawes, H. Weekly exercise does not improve fatigue levels in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2012, 27, 143–146.
510. Wittmann, K., Sieber, C., Von Stengel, S., Kohl, M., Freiberger, E., Jakob, F., et al. (2016). Impact of whole body electromyostimulation on cardiometabolic risk factors in older women with sarcopenic obesity: the randomized controlled FORMOsA-sarcopenic obesity study. *Clin. Interv. Aging* 11, 1697–1706. doi: 10.2147/CIA.S116430
511. Wyss-Coray, T. Ageing, Neurodegeneration and Brain Rejuvenation. *Nature* 2016, 539, 180–186.

512. Xilouri, M., Brekk, O. R. & Stefanis, L. alpha-Synuclein and protein degradation systems: a reciprocal relationship. *Molecular neurobiology* 47, 537-551, doi:10.1007/s12035-012-8341-2 (2013).
513. Xilouri, M., Vogiatzi, T., Vekrellis, K., Park, D. & Stefanis, L. Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PloS one* 4, e5515, doi:10.1371/journal.pone.0005515 (2009).
514. Xu Q, Park Y, Huang X, et al. Physical activities and future risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2010;75(4): 341-348. doi:10.1212/WNL.0b013e3181ea1597
515. Xu XM, Dong MX, Feng X, et al. Decreased serum proNGF concentration in patients with Parkinson's disease. *Neurol Sci*. 2018;39(1):91-96.
516. Xu, B., Goulding, E.H., Zang, K., Cepoi, D., Cone, R.D., Jones, K.R., Tecott, L.H. and Reichardt, L.F. (2003) Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nature Neuroscience* 6, 736-742.
517. Yanagisawa, N.; Fujimoto, S.; Tamaru, F. Bradykinesia in Parkinson's disease: Disorders of onset and execution of fast movement. *Europ. Neurol.* 1989, 29, 19–28.
518. Yang Y, Li XY, Gong L, Zhu YL, Hao YL. Tai chi for improvement of motor function, balance and gait in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e102942.
519. Yu, G., Michalski, B., Mathew, S., Coughlin, M.D. and Fahnstock, M. The nerve growth factor precursor exhibits biological activity similar to that of mature NGF. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 332.2.
520. Yue Z, Yang XW. Dangerous duet: LRRK2 and [alpha]-synuclein jam at CMA. *Nat Neurosci* 2013; 16: 375–7.
521. Zanetti, O.; Binetti, G.; Magni, E.; Rozzini, L.; Bianchetti, A.; Trabucchi, M. Procedural Memory Stimulation in Alzheimer's Disease: Impact of a Training Programme. *Acta Neurol. Scand.* 1997, 95, 152–157.
522. Zetuský, W.J.; Jankovic, J.; Pirozzolo, F.J. The heterogeneity of Parkinson's disease clinical and prognostic implications. *Neurology* 1985, 35, 522–522.
523. Zhang, M., Hu, T., Zhang, S., and Zhou, L. (2015). Associations of different adipose tissue depots with insulin resistance: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci. Rep.* 5:18495. doi: 10.1038/srep18495
524. Zhou, W., Barkow, J. C., & Freed, C. R. (2017). Running wheel exercise reduces α -synuclein aggregation and improves motor and cognitive function in a transgenic mouse model of Parkinson's disease. *PLoS One*, 12(12), e0190160.
525. Zimprich, A. et al. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *American journal of human genetics* 89, 168-175, doi:10.1016/j.ajhg.2011.06.008 (2011).
526. Zoladz JA, Pilc A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society.* 2010; 61:533–541.