

Tesi di laurea: “La stimolazione vagale transcutanea (tvns) come terapia adiuvante nella malattia di Parkinson” (Sintesi)

Autore: G. Anzini

Relatore: V. Di Lazzaro

Correlatore: M. Marano

Malattia di Parkinson

La malattia di Parkinson (MP) è una malattia complessa di tipo neurodegenerativo, a decorso cronico progressivo. La clinica è definita dall'associazione di sintomi motori, tipicamente la bradicinesia, il tremore a riposo, la rigidità e l'instabilità posturale, e sintomi non motori quali le disfunzioni autonome, il deterioramento cognitivo ed i disturbi psichici. La base fisiopatologica della malattia si fonda sul progressivo depauperamento dei neuroni dopaminergici della sostanza nera (SN) *pars compacta*, a cui consegue un ridotto livello di dopamina a livello striatale, e sul riscontro nei neuroni superstiti della presenza di formazioni ialine citoplasmatiche denominate Corpi di Lewy¹.

La MP si caratterizza per essere il più comune disturbo del movimento ed il secondo più frequente disturbo neurodegenerativo dopo la malattia di Alzheimer. Stando a quanto riportato infatti, dal 1990 al 2015, il numero di soggetti affetti da MP è aumentato globalmente del 118% fino a raggiungere i 6,2 milioni di persone². Si tratta di un trend in continua crescita in quanto, entro il 2040, si prevede che il numero di pazienti supererà i 12 milioni³.

La MP ha probabilmente un'eziologia multifattoriale, derivante dagli effetti combinati di fattori ambientali e genetici. I fattori di suscettibilità genetica possono modificare gli effetti delle esposizioni

ambientali. Infatti, se la maggior parte dei casi di MP è su base idiopatica, un 5%-10% dei casi ha invece una base genetica accertata. I geni parkina (PARK2), DJ-1 (PARK6) e PINK1 (PARK7) causano le forme autosomiche recessive associate ad un esordio precoce⁴.

La terapia impiegata nella MP è prettamente sintomatica, in quanto serve principalmente a ridurre i sintomi, ma non rallenta il decorso della patologia.

I farmaci utilizzati sono: levodopa, dopamino-agonisti, gli inibitori delle COMT, gli inibitori delle MAO-B (es. Selegilina e Rasagilina), levodopa/carbidopa gel intestinale¹.

Meccanismi sottostanti all'alterazione del cammino nella MP

All'interno dell'ampio spettro dei disturbi del cammino su base neurologica, rientra anche il cammino parkinsoniano. I meccanismi sottostanti sono eterogenei e complessi. L'andatura è sicuramente influenzata dall'aumentata rigidità muscolare, dall'ipocinesia e dalla bradicinesia. A ciò vanno aggiunti ulteriori fattori come: diminuzione della forza, disritmia, asincronia tra lato destro e sinistro, diminuzione anomala della dimensione del passo, alterata preparazione ed esecuzione dell'azione, nonché sindrome disesecutiva frontale. Inoltre, la capacità di avviare e mantenere la locomozione dipende

fortemente dai riflessi posturali, che sono spesso alterati. Il contributo di ciascuna di queste disfunzioni allo sviluppo delle alterazioni del cammino clinicamente osservate nei pazienti, differisce da un paziente all'altro e anche nello stesso individuo in momenti diversi della giornata o nelle diverse fasi di malattia (Fig. 1).

Il cammino nella MP è caratterizzato da ridotta velocità, ridotta lunghezza del passo, ridotta cadenza ed aumentata durata della fase di doppio appoggio. La diminuzione delle sincinesie degli arti superiori si può anche considerare come una caratteristica dell'andatura ipocinetica e bradicinetica, parzialmente influenzate anche dalla rigidità. L'alterata regolazione della lunghezza del passo si può considerare come il più importante disturbo dell'andatura, indicativo di una sottostante disfunzione dei gangli della base. I gangli della base regolano, non solo il mantenimento automatico della sequenza del movimento, ma anche l'esecuzione di ogni componente del movimento in maniera puntuale⁵.

Stimolazione vagale

La stimolazione vagale (VNS) è stata approvata dalla *US Food and Drug Administration* (FDA) per il trattamento

dell'epilessia e della depressione in pazienti con età superiore ai 12 anni ed attualmente si stanno esplorando nuovi campi di applicazione⁶.

La stimolazione vagale transcutanea (tVNS)

Si è dimostrato che la stimolazione transcutanea del nervo vago (tVNS) è una metodica in grado di svolgere i propri effetti sugli stessi *pathways* neurali della VNS, ma è stata sviluppata per superare le limitazioni associate ad un intervento di tipo invasivo. La diffusa accessibilità e il facile utilizzo di questa tecnologia ne accrescono l'attrattiva come possibile opzione di trattamento di prima linea per diverse patologie. La tVNS comprende la stimolazione del nervo vago non invasiva sia a livello auricolare (taVNS) sia a livello cervicale (tcVNS). Gli studi anatomici condotti sull'orecchio suggeriscono che il trago, la conca e la cimba conca siano tutte zone corporee in cui è possibile rinvenire distribuzioni afferenti cutanee del nervo vago e che la stimolazione di queste fibre produca i medesimi effetti terapeutici della VNS^{7, 8}. Questa tecnologia è in corso di studio per una serie di disturbi, tra cui cefalea, acufeni, fibrillazione atriale, schizofrenia e dolore (Fig. 2).

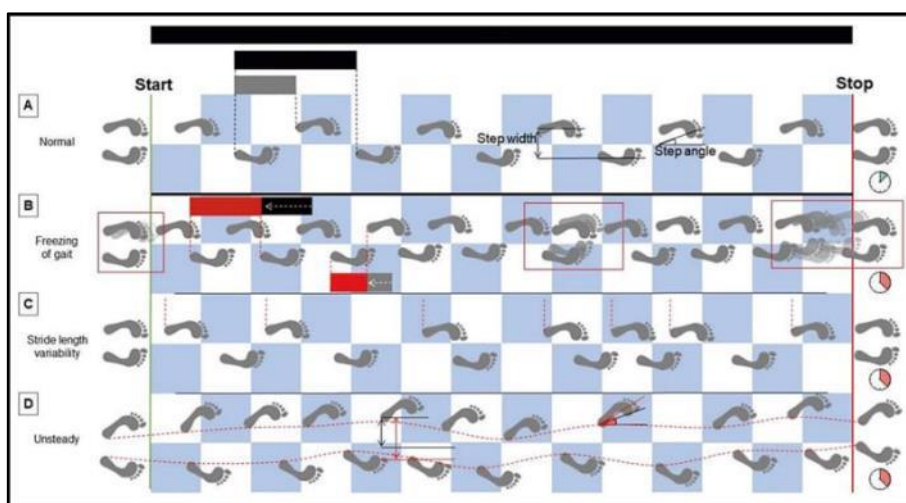


Fig. 1. Illustrazione visiva di alcune comuni alterazioni della marcia nella MP.

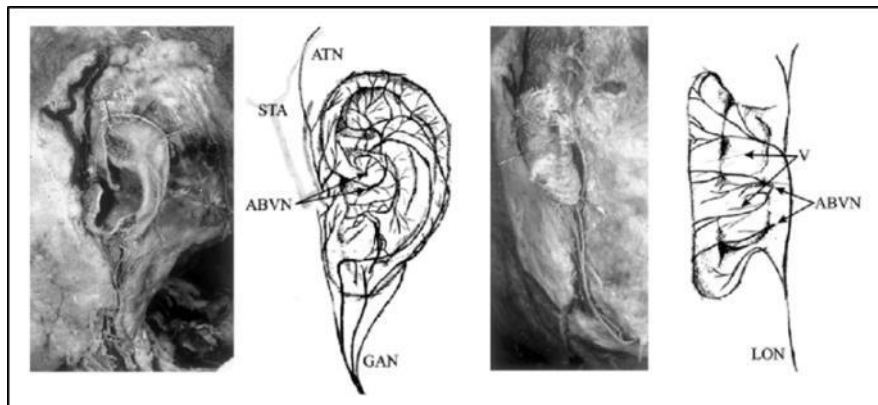


Fig. 2. Innervazione del ramo auricolare del nervo vago.

VNS e TVNS nella MP

La VNS esercita i suoi effetti attraverso gli input afferenti che invia al nucleo del tratto solitario (NTS) e successivamente attraverso l'attivazione sequenziale dei neuroni noradrenergici del locus coeruleus (LC), che a loro volta presentano proiezioni alla corteccia ed altre aree sottocorticali. Il locus coeruleus invia input efferenti anche al nucleo colinergico basale di Meynert, che fornisce estese proiezioni colinergiche alla corteccia cerebrale. È quindi probabile che anche il tono colinergico corticale venga potenziato dalla tVNS. È interessante notare che una riduzione del tono colinergico corticale è stata associata alla lentezza dell'andatura nei pazienti affetti da MP.

VNS e gli effetti sul cammino

Prevenire le cadute nella popolazione anziana è diventata una priorità di salute pubblica. Tra le prime cause di cadute trovano posto i disordini del movimento che sono anche una delle manifestazioni più comuni delle sindromi dell'invecchiamento. In questo ambito rientra la MP, in cui le alterazioni del cammino e il rischio di caduta sono predominanti. Perciò andare a colpire selettivamente alcune caratteristiche del cammino, che sono alla base del rischio di caduta, potrebbe ridurre la morbilità e la mortalità associate alle cadute nella MP¹⁰.

Si tenga conto che l'alterazione della marcia avviene solitamente in uno stadio precoce e peggiora progressivamente con l'avanzare della malattia. Tali alterazioni precoci predicono la possibilità di caduta anche in pazienti considerati "fall naive"¹¹. Nonostante il trattamento dopaminergico efficace, in un primo stadio, sono ugualmente evidenti delle alterazioni del cammino, quali la variabilità del tempo del passo e variabilità della lunghezza del passo. Si tenga conto che anche il decadimento cognitivo gioca un ruolo nello sviluppo delle alterazioni della marcia e che, viceversa, le alterazioni del cammino sembrano predire il declino cognitivo nelle forme precoci di MP. Tra l'altro, entrambe le condizioni, sono in parte spiegabili attraverso le alterazioni sistematiche della trasmissione colinergica, oltre che dalla neurodegenerazione dei pattern dopaminergici nigrostriatali. Nella MP avviene una perdita importante dei neuroni colinergici sia nel nucleo basale di Meynert che nel nucleo peduncolopontino. A prova del loro ruolo nel cammino, dei miglioramenti nell'andatura e nel controllo posturale si sono osservati in seguito alla stimolazione cerebrale profonda (DBS) di questi due nuclei¹².

Panoramica degli studi svolti sulla VNS

Il primo studio ad esaminare il potenziale terapeutico della VNS invasiva nella MP fu condotto nel 2017 da A.Q. Farrand e colleghi.

Si testò l'effetto della stimolazione vagale, eseguita con una frequenza di due volte al giorno, su modelli di topo in cui era stata indotta la degenerazione dei neuroni del LC e di quelli dopaminergici della SN per ottenere dei deficit riconducibili a quelli della MP. Complessivamente, questo studio constatava come la VNS avesse nella MP un potenziale di trattamento multimodale, dimostrato dal miglioramento della locomozione e dal rallentamento della degenerazione dei neuroni noradrenergici del LC, dall'aumento dell'immunoreattività per la tirosina idrolasi (TH, un enzima implicato nella conversione di L-tirosina in L-dopa,) nel nucleo striato dorsale accompagnato da un aumento delle cellule TH-positive nella SN, nonché dalla riduzione dell'espressione di α -sinucleina e delle cellule della infiammazione¹³. Appurata la potenziale efficacia di questa tecnica, nel 2020 fu condotto un successivo studio per determinare il protocollo di stimolazione più efficace per la VNS. In primo luogo, si dimostrò che la VNS a prescindere dal protocollo utilizzato, si traduceva comunque in una riduzione della neuroinfiammazione, nell'attenuazione della perdita di neuroni del LC e della SN e in una migliore funzione motoria, tuttavia, frequenze di stimolazione più elevate sono risultate più efficaci. Più recentemente, questa modalità di trattamento è stata semplificata dall'introduzione di dispositivi portatili non invasivi. Questo approccio presenta diversi vantaggi, non ultimo la possibilità di sperimentare, senza particolari controindicazioni, questo trattamento in vari tipi di disturbi, poiché il rischio di complicazioni chirurgiche e post-operatorie viene completamente abbattuto. Nel 2019 si è concluso il primo studio con utilizzo della stimolazione vagale transcutanea cervicale (tcVNS) a scopo terapeutico nella MP, in cui in seguito ad una singola applicazione si sono registrati significativi miglioramenti nel cammino. La lunghezza del passo, il numero di passi, la velocità e la variabilità della velocità del passo hanno subito un

miglioramento, mentre nei pazienti con freezing il numero di passi compiuti per cambiare direzione è stato significativamente ridotto¹⁴. Un secondo studio con controllo placebo, ha fornito dei dati preliminari che suggeriscono che alcuni parametri del cammino resistenti alla terapia, quali la variabilità del tempo del passo e la variabilità della lunghezza del passo, possano migliorare con la VNS non invasiva. Nella medesima sperimentazione si è anche ipotizzato che il meccanismo patologico alla base potrebbe essere collegato all'aumentata deposizione di β -amiloide della MP, con l'instaurarsi di un circolo vizioso in cui la perdita neuronale determina l'aumento di β -amiloide e l'aumento di β -amiloide aggrava il depauperamento neuronale¹⁵. Nel 2021, Mandal e colleghi hanno condotto un'ulteriore sperimentazione per indagare gli effetti della tcVNS anche nel caso di stimolazioni croniche. I risultati ottenuti indicano che, nel caso di stimolazioni erogate tre volte al giorno per un mese, il cammino e la funzione motoria migliorano in generale in pazienti affetti da MP, oltre al fatto che si riducono in maniera significativa i marcatori sierici d'infiammazione (ad esempio TNF- α) ed aumentano i livelli sierici del fattore neurotrofico cerebrale (BDNF), implicato nella neuroplasticità. Tenute in conto queste recenti scoperte, unite anche alle osservazioni precedenti, in cui si osservava già una riduzione dei livelli di antiossidanti in seguito a stimolazione vagale, si è ipotizzato che la tVNS possa presentare un potenziale terapeutico non solo nel ridurre i sintomi ma anche nel modificare i meccanismi patologici alla base della MP¹⁶.

Nel 2018, è stato indagato l'effetto della stimolazione vagale transcutanea auricolare sui topi e gli effetti riportati erano paragonabili a quelli indotti dalla stimolazione invasiva e non invasiva a livello cervicale. Nel dettaglio, si è registrato un miglioramento delle prestazioni motorie, un aumento dei neuroni dopaminergici TH-

positivi e la soppressione delle citochine proinfiammatorie¹⁷.

Materiali e metodi

Popolazione

La popolazione arruolata per questo studio è composta da 12 pazienti affetti da MP idiopatica, diagnosticata mediante criteri conservativi UK Brain Bank, con età compresa tra i 63 e gli 85 anni. I criteri di inclusione dello studio comprendono: assenza di segni clinici di deterioramento cognitivo, essere in terapia cronica stabile con levodopa non complicata da movimenti involontari, lamentare un disturbo del cammino ma essere ancora autonomi nella deambulazione, avere uno stadio di Hoehn e Yahr modificato di malattia inferiore a 3 (stadio iniziale-intermedio).

Disegno dello studio

Si tratta di uno studio pilota randomizzato, cross-over, in doppio cieco, controllato con placebo volto ad indagare l'effetto della stimolazione vagale transcutanea (tVNS) auricolare sulla deambulazione nei pazienti con MP (Fig. 3).

Metodi

Prima fase: Visita di reclutamento

Nella prima visita, della durata di 1 h e mezza, si svolgeva la fase di reclutamento presso il Policlinico Universitario Campus Biomedico. Inizialmente, si illustrava nuovamente il disegno dello studio con i suoi obiettivi e le sue finalità, dopodiché si procedeva a somministrare i questionari al

paziente. In particolare in questa prima fase, l'operatore compilava con il paziente tutti gli items delle sezioni I-II-IV-V-VI dell'UPDRS e il questionario FoG-Q.

In un secondo momento, l'esaminatore faceva effettuare al paziente il *Ten Meter Walk Test* (10mWT). Alla fine della prova si consideravano idonei a partecipare allo studio i soggetti con le medie delle velocità sotto determinati valori ($V_n < 1,7$ m/s e $V_e < 2,3$ m/s) ad indicare un'alterazione del cammino tale da lasciare spazio ai possibili benefici della tecnica in esame. Hanno superato la fase di reclutamento 12 soggetti su 14, a cui venivano fornite le indicazioni per i due successivi incontri in cui si sarebbero svolte le stimolazioni vagali non invasive (tVNS). Dei due soggetti esclusi, uno è stato escluso per scarsa compliance e l'altro perché non è riuscito a completare il 10mWT.

Seconda fase: stimolazione vagale transcutanea (tVNS) e stimolazione placebo

I due incontri successivi, della durata di 1 h e mezza circa ciascuno, si svolgevano presso il NeXT Lab- Unità di ricerca di Neurofisiologia e Neuroingegneria dell'Università Campus Bio-Medico. Ogni incontro era diviso in tre parti.

Nella prima parte, veniva effettuata una valutazione dello stato basale del paziente (*base condition*) attraverso il completamento della sezione III dell'UPDRS e due test eseguiti tramite l'applicazione Mon4t Clinic: il flanker test e il TUG 10mx2 test.

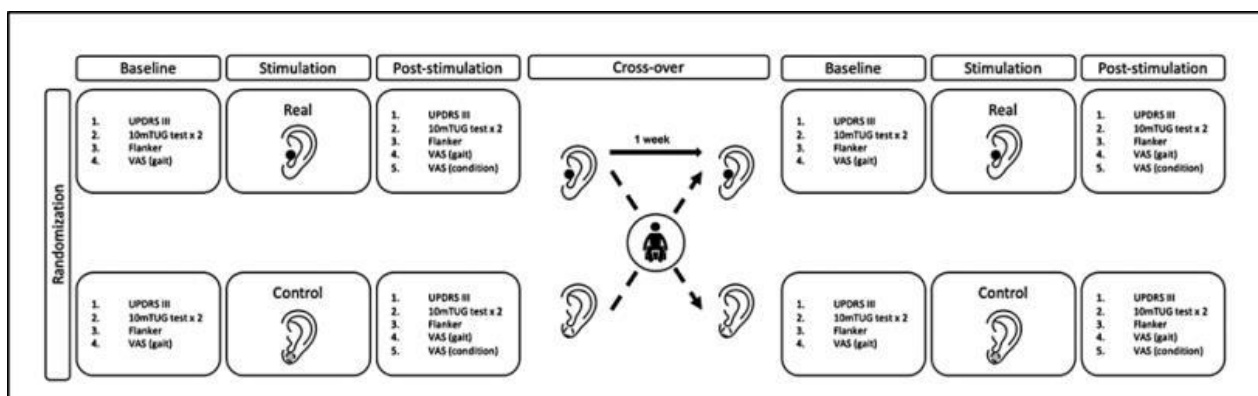


Fig. 3. Disegno dello studio.

Per il *flanker test*, il soggetto veniva fatto accomodare su una sedia e istruito riguardo le azioni necessarie per completare correttamente la prova: premere il più velocemente possibile il “tasto freccia” con direzione corrispondente a quella della freccia centrale delle serie di stimoli che venivano man mano proposte dall’applicazione. In caso di errore, il test non doveva essere fermato o ripetuto, ma continuare fino all’allarme sonoro che indicava la conclusione dell’esercizio.

Successivamente, si passava al completamento dei 14 items della sezione III (esame motorio) dell’UPDRS, con particolare attenzione ai parametri agilità delle gambe, andatura e stabilità posturale.

Infine, veniva svolto il test TUG 10mx2. L’applicazione Mon4t Clinic, appositamente avviata per permettere l’effettuazione del test, registrava e inviava al server i dati relativi ai vari parametri della marcia del paziente. Il TUG era impostato per ripetersi per due volte consecutive a distanza di 5 secondi l’uno dall’altro. Durante questa prova, dopo previa acquisizione di consenso, l’operatore riprendeva il soggetto tramite videocamera per permettere un confronto tra i dati acquisiti e quanto visionato nel filmato. Infine, veniva chiesto al paziente di segnalare all’operatore, tramite apposita scala VAS(0-10), come percepiva il suo cammino.

Nella seconda parte, veniva effettuata la stimolazione vagale non invasiva transcutanea (tvNS). Alla prima visita, 7 (58,3%) pazienti sono stati sottoposti a stimolazione reale (REAL) e 5 (41,7%) pazienti a stimolazione placebo (CONTROL). Il punto di applicazione dello stimolo era a livello del trago nel caso della stimolazione reale, e a livello del lobo auricolare (dove non si trovano terminazioni vagali) nel caso della stimolazione placebo. Gli elettrodi di superficie venivano fissati con una distanza di 2 mm tra catodo ed anodo, con pasta e cerotto adesivo cute compatibili, e collegati

ad un generatore (Digitimer DS7A, marcato CE) che permetteva di impostare i parametri della stimolazione. La seduta totale di stimolazione durava complessivamente 30 minuti, il paziente veniva sottoposto a 6 cicli di stimoli della durata di 30 secondi l’uno, composti da 600 impulsi (a 20 Hz di frequenza con singola durata di 0,3 ms), intervallati da 4 minuti e mezzo di pausa. Lo stimolatore elettrico veniva attivato dal *software Signal* (versione 5) e dall’interfaccia di acquisizione dati CED (*Cambridge Electronic Design*, Cambridge, Regno Unito). Si raccomandava al paziente di non parlare durante i 30 secondi di stimolazione. Per determinare l’intensità di stimolazione, per ogni soggetto, è stata determinata la soglia sensitiva (intensità minima di percezione dello stimolo) e la soglia dolorosa (intensità determinante percezione dolorosa dello stimolo). La stimolazione utilizzata aveva un’intensità superiore alla soglia sensitiva ed inferiore alla soglia dolorosa. Nel rispetto di tale criterio, si è utilizzata un’intensità media di 8 mA, in quanto dati di letteratura¹⁸ dimostrano che tale intensità è tale da determinare nel soggetto sano potenziali evocati chiaramente determinabili senza percezione dolorosa.

L’ultima parte della visita si svolgeva in maniera analoga alla prima: si procedeva a completare il *flanker test*, l’UPDRS III e il TUG10mx2 test, con lo scopo di reperire i dati relativi ai medesimi parametri visti in precedenza ma in una condizione post-stimolazione (*stim condition*). Alla fine della visita veniva domandato nuovamente di segnalare sulla scala VAS (0-10) la percezione del proprio cammino. Per assicurarsi che venisse rispettata la condizione in cieco, veniva anche richiesto al paziente di compilare una seconda scala VAS per rispondere alla domanda “Quanto ritieni reale questa terapia da 0-10?” relativamente ad entrambe le stimolazioni.

A distanza di una settimana, veniva fissato il secondo incontro in cui i pazienti

tornavano a visita per completare lo studio. Tutti i soggetti hanno effettuato un *cross-over* verso la condizione alternativa: i 7 pazienti, che nella prima visita erano stati sottoposti a stimolazione reale, nel secondo incontro venivano sottoposti a stimolazione placebo ed allo stesso modo, i 5 pazienti, che avevano ricevuto la stimolazione placebo al primo incontro, al secondo venivano sottoposti a quella reale. I soggetti, come previsto dal disegno dello studio, non venivano informati su quale delle due stimolazioni stessero svolgendo nei singoli incontri e l'operatore ripeteva la procedura di preparazione alla stimolazione in maniera analoga, fatta eccezione per i punti di applicazione degli elettrodi.

Al termine delle visite, l'operatore procedeva ad inserire i dati ottenuti su un database dedicato da cui poi poter trarre i risultati statistici.

Risultati

Nel presente studio sono stati arruolati 12 pazienti affetti da MP. La popolazione si componeva di 3 soggetti femminili (25%) e 9 soggetti maschili (75%) con un'età media di 75,5 (\pm 7,1) anni. Tutti i soggetti presentavano un Hoehn e Yahr modificato inferiore o uguale a 2,5 con punteggio medio di 1,9 (\pm 0,3) mentre la durata di malattia media di 5,9 (\pm 3,4) anni.

Il 50% ha dichiarato all'item 15 dell'UPDRS II ("marcia") uno score di 1 (corrispondente alla dicitura "Leggera difficoltà; può non oscillare le braccia o può trascinare le gambe."), il restante 50% uno score di 2 (corrispondente a "Difficoltà moderata, ma richiede poca o nessuna assistenza"). Il 25% dei soggetti aveva una storia di *freezing*, ma nessuno dei soggetti ha presentato episodi di *freezing* quando si trovava sotto effetto di levodopa e/o durante l'esperimento. All'item 14 dell'UPDRS II che indaga il *freezing* durante la marcia, il 25 % dei soggetti ha assegnato un valore superiore allo 0 (Tab. 1).

	Mean \pm standard deviation	N %
Sesso (F)		3 (25)
Età (anni)	75.5 (\pm 7.1)	
Modified Hoehn and Yahr	1.9 \pm 0.3	
	1.5	4 (33.3)
	2	6 (50)
	2.5	2 (16.7)
UPDRS I	5.16 \pm 3	
UPDRS II	15.7 \pm 3.9	
	Item 14 > 0	3 (25)
	Item 15 = 1	6 (50)
	Item 15 = 1	6 (50)
UPDRS IV	1.75 \pm 2.1	
FoG-Q	5,01 \pm 6,49	

Tab. 1. Dati demografici e caratteristiche di base della patologia.

I soggetti sono stati sottoposti a due visite, una con stimolazione placebo (control), ed una con stimolazione reale (real). I valori rilevati al basale, prima di entrambe le stimolazioni, erano statisticamente simili sia nelle scale somministrate (UPDRS III e VAS), sia nei parametri oggettivi indagati (tempo di reazione, tempo totale del cammino, numero di passi, lunghezza del passo, oscillazione, ampiezza dell'oscillazione) (Tab. 2).

	Valutazioni allo stato basale		p-value
	Control	Real	
UPDRS III	21.5 \pm 7.8	22.5 \pm 7.5	0.807
VAS	6.5 \pm 1.6	6.3 \pm 1.5	0.791
Tempo di reazione (s)	1.61 \pm 0.68	1.69 \pm 0.52	0.579
Tempo totale del cammino (s)	28 \pm 6.98	29.7 \pm 7.7	0.791
Numero di passi (n)	25.7 \pm 8.4	25.3 \pm 7.3	0.749
Lunghezza del passo (m)	0.61 \pm 0.11	0.58 \pm 0.10	0.197
Oscillazione (m)	0.06 \pm 0.08	0.04 \pm 0.01	0.903
Ampiezza della oscillazione (m)	0.54 \pm 0.13	0.54 \pm 0.17	0.984

Tab. 2. Valutazioni allo stato basale.

In base alle analisi statistiche formulate sulla base dei dati raccolti si è dimostrato che l'UPDRS-III e la VAS sono migliorate dopo entrambe le condizioni di stimolazione (placebo e reale), ma con una miglior tendenza dopo la stimolazione reale. L'UPDRS III post-stimolazione reale presenta un valore medio di 20,1 (\pm 7,2) con p=0,002,

mentre in seguito a stimolazione placebo di 19,7 (\pm 7,9) con $p=0,003$. Si è dimostrato anche che ulteriori valori determinati tramite l'applicazione Mon4t Clinic hanno subito dei cambiamenti successivamente alle due stimolazioni. La VAS post-stimolazione reale presenta un valore medio di 7,6, (\pm 1,7) con $p=0,011$, mentre in seguito a stimolazione placebo di 7,6 (\pm 1,95) con $p=0,039$. La lunghezza del passo, l'ampiezza dell'oscillazione del passo ed il tempo totale impiegato hanno mostrato cambiamenti statisticamente significativi ($p<0,05$) in positivo solo dopo la taVNS. Invece i cambiamenti riportati successivamente a stimolazione placebo, in questi parametri, non sono risultati statisticamente rilevanti. Le oscillazioni, misurate sia nella componente medio-laterale che antero-posteriore, non hanno subito cambiamenti significativi ($p>0,05$) in seguito a nessuno dei due tipi di stimolazione, così come anche il numero di passi effettuati. La lunghezza del passo post-stimolazione reale presenta un valore medio di 0,61 (\pm 0,11) metri con $p=0,005$, mentre post-stimolazione placebo di 0,60 (\pm 0,13) metri con $p=0,722$. Il tempo totale impiegato post-stimolazione reale presenta un valore medio di 27,4 (\pm 6,2) secondi con $p=0,013$, mentre post-stimolazione placebo di 28,1 (\pm 7,9) secondi con $p=0,637$. L'ampiezza dell'oscillazione del passo post-stimolazione

reale presenta un valore medio di 0,59 (\pm 0,21) metri con $p=0,018$, mentre post-stimolazione placebo di 0,55 (\pm 0,16) metri con $p=0,691$.

Inoltre, il tempo di reazione analizzato con il *flanker test* è migliorato solo in seguito a stimolazione reale. Il tempo totale di reazione nel post-stimolazione reale presenta un valore medio di 1,50 (\pm 0,47) secondi con $p=0,005$, mentre post-stimolazione placebo di 1,53 (\pm 0,66) secondi con $p=0,230$.

In seguito ad ogni stimolazione, a tutti i soggetti è stato chiesto di segnalare su scala VAS (0-10) la possibilità di essere trattati con una stimolazione reale. In seguito a stimolazione reale il punteggio medio ottenuto era di 5,6 (\pm 2), dopo la stimolazione di controllo di 5,6 (\pm 2,1) con una $p=0,953$, non statisticamente rilevante (Tab. 3).

Discussione

In questo studio, è stata selezionata una coorte di pazienti affetti da MP idiopatica, stadio iniziale-intermedio di malattia, ed è stata sottoposta a stimolazione vagale transcutanea a livello auricolare con l'obiettivo di dimostrare se questa tecnica, già approvata dalla FDA per altre patologie¹⁹, avesse delle potenzialità nel migliorare la performance motoria nella MP.

	Stimolazione placebo			Stimolazione reale (taVNS)		
	T0	T1	p-value	T0	T1	p-value
UPDRS III	21.5 \pm 7.8	19.7 \pm 7.9	.003*	22.5 \pm 7.5	20.1 \pm 7.2	.002*
VAS	6.5 \pm 1.6	7.6 \pm 1.95	.039*	6.3 \pm 1.5	7.6 \pm 1.7	.011*
Tempo di reazione (s)	1.61 \pm 0.68	1.53 \pm 0.66	.230	1.69 \pm 0.52	1.50 \pm 0.47	.005*
Tempo Totale (s)	28 \pm 6.98	28.1 \pm 7.9	.637	29.7 \pm 7.7	27.4 \pm 6.2	.013*
Passi (n)	25.7 \pm 8.4	23.8 \pm 8.1	0.56	25.3 \pm 7.3	23.1 \pm 8.1	.264
Lunghezza del passo (m)	0.61 \pm 0.11	0.60 \pm 0.13	.722	0.58 \pm 0.10	0.61 \pm 0.11	.005*
Oscillazione (m)	0.06 \pm 0.08	0.07 \pm 0.10	.726	0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.008	.078
Ampiezza oscillazione (m)	0.54 \pm 0.13	0.55 \pm 0.16	.691	0.54 \pm 0.17	0.59 \pm 0.21	.018*

Tab. 3. Confronto dei dati raccolti nelle stimolazioni placebo e reali.

I risultati ottenuti confrontando i punteggi dell'UPDRS III prima e dopo stimolazione, hanno dimostrato un miglioramento dell'esame obiettivo motorio globale del paziente in seguito ad entrambe le condizioni di stimolazione, ma con trend migliore in seguito a tVNS reale. La scala VAS sulla percezione del cammino correla con i risultati dell'UPDRS III, al termine di entrambe le condizioni di stimolazione i pazienti hanno riferito un miglioramento nella percezione della propria marcia, in modo particolare quando la domanda veniva posta in seguito a stimolazione reale. Inoltre, considerato l'importante effetto placebo che caratterizza questa tipologia di pazienti¹⁹, gli stessi soggetti sottoposti a stimolazione vagale in una visita, nell'altra visita sono stati sottoposti a controllo con placebo, con l'intento di determinare la reale efficacia comparativa del trattamento in esame. Le visite venivano svolte a distanza di una settimana e per assicurarsi che al momento della stimolazione i pazienti non presentassero differenze significative con la visita precedente, venivano svolte delle valutazioni allo stato basale (pre-stimolazione). Queste non hanno dimostrato differenze significative, rendendo possibile comparare i dati raccolti nelle due diverse giornate.

Trattandosi di uno studio in doppio cieco, i pazienti non venivano messi a conoscenza di quale stimolazione stavano ricevendo nelle singole visite. Ciò è stato confermato anche tramite una seconda scala VAS, somministrata al termine delle stimolazioni, in cui ai pazienti veniva chiesto di quantificare su una scala da 0 a 10 quanto ritenessero reale la terapia appena ricevuta. La maggior parte dei pazienti tendeva a segnare lo stesso valore ad entrambe le terapie, dimostrando di non aver percepito alcuna differenza.

In aggiunta sono state utilizzate, non solo scale di valutazione (UPDRS III e VAS sulla percezione del cammino) che andavano ad

indagare qualitativamente la motricità del paziente, ma anche parametri oggettivabili della marcia reperiti tramite l'applicazione "Mon4t Clinic" durante il TUG10m x2, poi confrontati con i filmati delle prove.

Dai nostri risultati si è potuto osservare che il tempo totale impiegato nello svolgimento del test si è ridotto mentre la lunghezza del passo e l'ampiezza delle oscillazioni sono aumentate. Partendo dal presupposto che la MP è caratterizzata clinicamente da una maggiore lentezza nel cammino e da un'andatura a piccoli passi¹, i dati raccolti indicano come la stimolazione vagale transauricolare sia in grado di migliorare questi aspetti, andando ad allungare il passo e velocizzando il cammino.

Inoltre, si è dimostrato un miglioramento anche nella performance cognitiva dei pazienti. Infatti, la tVNS ha indotto un cambiamento significativo nel tempo di reazione misurato tramite il *flanker test*, un parametro già in precedenza riconosciuto come responsivo alla VNS²¹, rafforzando la validità dei risultati ottenuti. Si ritiene che la VNS, sia di tipo invasivo che non invasivo, possa influenzare le vie colinergiche e noradrenergiche ascendenti che sono coinvolte nell'elaborazione cognitiva e nelle abilità locomotorie¹³.

Nessun paziente ha riportato particolari fastidi durante la stimolazione e nessun effetto collaterale è stato riferito, né durante e né in seguito. Con lo scopo di evitare possibili effetti avversi a livello cardiaco, le stimolazioni venivano erogate solo a livello dell'orecchio sinistro. In ogni caso, recenti dati in letteratura sulla taVNS sembrano suggerire che sia possibile stimolare entrambi i lati senza incorrere in un maggior rischio di eventi avversi²². In caso di stimolazioni auto-erogate, questo potrebbe essere un ulteriore elemento che ne aumenta la semplicità e la sicurezza di utilizzo.

La forza e i limiti di questa ricerca devono essere interpretati alla luce della

letteratura attuale, che è ancora alla ricerca di prove solide. Sperimentazioni cliniche precedenti suggeriscono che la VNS invasiva, così come quella transcutanea a livello cervicale (tcVNS), migliorino l'andatura ed i marcatori infiammatori, avendo dunque la capacità di ridurre i sintomi ma anche un possibile ruolo nel modificare i meccanismi patologici alla base. La VNS auricolare era stata testata in precedenza solo su modelli murini in laboratorio e ad un primo approccio aveva fornito risultati promettenti alla pari delle altre due. Questo è il primo studio che valuta in maniera sistematica l'effetto della VNS transcutanea (tVNS) auricolare nei pazienti affetti da MP²³.

Sebbene la ricerca in questo campo sia in crescita, numerosi rimangono gli aspetti da chiarire. Molte delle sperimentazioni condotte fino a questo momento, compreso lo studio in esame, si basavano su un piccolo numero di partecipanti. Ciò rende difficile concludere se i risultati ottenuti possano effettivamente essere generalizzati a popolazioni di pazienti più ampie. In più, le indagini sulla durata degli effetti della stimolazione vagale transcutanea dopo la fine del periodo di stimolazione sono ancora molto scarse. Come in questo lavoro, molte delle indagini compiutesi fino ad ora comprendevano una singola applicazione di tVNS e le valutazioni venivano svolte subito prima e subito dopo. Ulteriori studi sono quindi necessari, anche con lo scopo di determinare quali possano essere i protocolli di stimolazione più efficaci e studiare i potenziali effetti terapeutici della tVNS applicata in cronico. Tuttavia, dato il ruolo preminente della dopamina nel determinare la lunghezza del passo e le evidenze preliminari di un legame tra il vago e il sistema dopaminergico, è possibile ipotizzare un ruolo affascinante per la VNS nel facilitare la trasmissione dopaminergica.

Conclusioni

I risultati di questa sperimentazione sono in linea con quelli ottenuti anche da

altri studi sulla VNS non invasiva svolti in precedenza, sia in acuto che in cronico.

La facile e diffusa accessibilità dei dispositivi portatili in commercio per la taVNS ne accresce l'attrattiva come possibile opzione di trattamento adiuvante. Sono necessarie ulteriori sperimentazioni da condurre su un campione più ampio, esplorando anche il dosaggio e la durata della VNS, per confermare le nostre osservazioni e valutare l'effetto cumulativo della tVNS auricolare in un contesto di stimolazione cronica, perché ciò consentirebbe di inserire la VNS nel panorama della neuromodulazione della MP.

BIBLIOGRAFIA

1. Fazio C, Loeb C. Neurologia. Roma: Società Editrice Universo, 2019.
2. Beitz JM. Parkinson's disease: a review. Front Biosci (Schol Ed) 2014; 6: 65-74.
3. GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet Neurol 2017; 16: 877-97.
4. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. Clin Geriatr Med 2020; 36: 1-12.
5. Giladi N, Nieuwboer A. Gait Disturbances in Parkinsonism. In: Encyclopedia of Movement Disorders. Elsevier Inc. 2010; 526-30.
6. Ohemeng KK, Parham K. Vagal Nerve Stimulation: Indications, Implantation, and Outcomes. Otolaryngol Clin North Am 2020; 53: 127-43.
7. Peuker ET, Filler TJ. The nerve supply of the human auricle. Clin Anat 2002; 15: 35-7.
8. Hein E, Nowak M, Kiess O, et al. Auricular transcutaneous electrical nerve stimulation in depressed patients: a randomized controlled pilot study. J Neural Transm 2013; 120: 821-7.
9. Kiyokawa J, Yamaguchi K, Okada R, Maehara T, Akita K. Origin, course and distribution of the nerves to the posterosuperior wall of the external acoustic meatus. Anat Sci Int 2014; 89: 238-45.

10. Sigurdsson HP, Raw R, Hunter H, et al. Noninvasive vagus nerve stimulation in Parkinson's disease: current status and future prospects. *Expert Rev Med Devices* 2021; 18: 971-84.
11. Lord S, Gaina B, Yarnall AJ, et al. Predicting first fall in newly diagnosed Parkinson's disease: insights from a fall-naïve cohort. *Mov Disord* 2016; 31: 1829-36.
12. Sigurdsson HP, Raw R, Hunter H, et al. Noninvasive vagus nerve stimulation in Parkinson's disease: current status and future prospects. *Expert Rev Med Devices* 2021; 18: 971-84.
13. Farrand AQ, Helke KL, Gregory RA, Gooz M, Hinson VK, Boger HA. Vagus nerve stimulation improves locomotion and neuronal populations in a model of Parkinson's disease. *Brain Stimul* 2017; 10: 1045-54.
14. Mondal B, Choudhury S, Simon B, Baker MR, Kumar H. Noninvasive vagus nerve stimulation improves gait and reduces freezing of gait in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2019; 34: 917-8.
15. Morris R, Yarnall AJ, Hunter H, Taylor JP, Baker MR, Rochester L. Noninvasive vagus nerve stimulation to target gait impairment in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2019; 34: 918-9.
16. Mondal B, Choudhury S, Banerjee R, et al. Non-invasive vagus nerve stimulation improves clinical and molecular biomarkers of Parkinson's disease in patients with freezing of gait. *NPJ Parkinsons Dis* 2021; 7: 46.
17. Jiang Y, Cao Z, Ma H, et al. Auricular Vagus Nerve Stimulation Exerts Antiinflammatory Effects and Immune Regulatory Function in a 6-OHDA Model of Parkinson's Disease. *Neurochem Res* 2018; 43: 2155-64.
18. Spuck S, Nowak G, Renneberg A, Tronnier V, Sperner J. Right-sided vagus nerve stimulation in humans: an effective therapy? *Epilepsy Res* 2008; 82: 232-4.
19. Beauchet O, Fantino B, Allali G, Muir SW, Montero-Odasso M, Annweiler C. Timed Up and Go test and risk of falls in older adults: a systematic review. *J Nutr Health Aging* 2011; 5: 933-8.
20. Cambridge Electronic Design Ltd 1996-2018. Signal Version 5.12 settembre 2017. Cambridge Electronic Design. <https://ced.co.uk/img/Signal5.pdf>.
21. Farrand AQ, Helke KL, Gregory RA, Gooz M, Hinson VK, Boger HA. Vagus nerve stimulation improves locomotion and neuronal populations in a model of Parkinson's disease. *Brain Stimul* 2017; 10: 1045-54.
22. Jacobs HIL, Riphagen JM, Razat CM, Wiese S, Sack AT. Transcutaneous vagus nerve stimulation boosts associative memory in older individuals. *Neurobiol Aging* 2015; 36: 1860-7.
23. Jongkees BJ, Immink MA, Finisguerra A, Colzato LS. Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (tVNS) Enhances Response Selection During Sequential Action. *Front Psychol* 2018; 9: 1159.

Sintesi della Tesi di Laurea discussa il 17 giugno 2022

Dott.ssa Gaia Anzini, Facoltà Dipartimentale di Medicina e Chirurgia, Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Prof. Vincenzo Di Lazzaro, Preside Facoltà Dipartimentale di Medicina e Chirurgia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Dott. Massimo Marano, Unità di Ricerca Medicina e Chirurgia, Neurologia, Neurofisiologia, Neurobiologia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Per la corrispondenza: anzinigaia@gmail.com