



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di *Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari*

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E SPERIMENTALI
INDIRIZZO NEUROSCIENZE
CICLO XXVI**

**NUOVE METODICHE RIABILITATIVE
NELLE MALATTIE NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE**

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Elena Pegoraro

Supervisore: Ch.mo Prof. Corrado Angelini

Dottorando: Dott.ssa Paola Cudia

ABSTRACT

Introduzione La Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1) e le Paraparesi Spastiche Ereditarie (HSP) sono malattie rare geneticamente determinate, caratterizzate da severo impairment motorio, per le quali non sono ancora disponibili trattamenti farmacologici risolutivi. Le opportunità riabilitative attualmente presenti in ambito neuromotorio, non sono ancora sufficientemente studiate. E' crescente inoltre l'esigenza di individuare e ricorrere a metodiche riabilitative innovative, soprattutto per i pazienti con deficit neurologico più severo per i quali non è possibile attualmente alcun recupero motorio. L'Elettrostimolazione Funzionale (FES) è una metodica riabilitativa caratterizzata dalla somministrazione di correnti eccitatorie a livello neuromuscolare in associazione ad un task funzionale (es. cammino, pedalata). Gli studi finora condotti sulle malattie cerebrovascolari e sulle lesioni midollari, hanno dimostrato il ruolo di tale metodica nel contrastare l'atrofia ed aumentare la massa muscolare migliorando nel contempo le prestazioni cardiovascolari. Il suo impiego nelle malattie rare è innovativo e non è mai stata studiato.

Obiettivi L'obiettivo generale dello studio è quello di valutare la sicurezza e l'efficacia della FES-cycling nei pazienti affetti da DM1 e da HSP.

Disegno Sono stati condotti due studi pilota controllati. Nel primo sono stati considerati pazienti con diagnosi di DM1, nel secondo soggetti con diagnosi di HSP. In ciascuno studio i partecipanti sono stati suddivisi in due gruppi, omogenei per variabili cliniche, che hanno eseguito due tipi di trattamento : FES-cycling e training convenzionale comprendente esercizi di rinforzo, attività aerobica e stretching. La scala MRC modificata, la scala di Ashworth e le valutazioni funzionali sono state effettuate all'inizio ed al termine del trattamento riabilitativo. L'analisi statistica è stata condotta mediante l'indice d di Cohen.

Risultati Il trattamento con FES è stato ben tollerato ed è risultato più efficace del trattamento convenzionale nel migliorare la forza del muscolo tibiale anteriore ($d= 1,583$ DM1; $d= 0.840$ HSP), la forza muscolare globale ($d= 1,723$ DM1; $d= 0.582$ HSP), la spasticità, ($d= 1.334$ HSP), la velocità del cammino ($d= 0.820$ HSP), e la resistenza alla fatica ($d= 0,626$ DM1).

Conclusioni La FES può essere considerata una metodica sicura ed efficace nel migliorare le performances motorie, anche in muscoli severamente compromessi nei quali non sono possibili altri interventi terapeutici. La conferma dell'efficacia delle FES attraverso ulteriori trials clinici su vasta scala è auspicabile.

ABSTRACT

Introduction Myotonic Dystrophy type I (DM1) and Hereditary Spastic Paraparesis (HSP) are inherited rare disorders characterized by severe muscular impairment. At present, no effective pharmacological treatment is available. To date, only a limited number of clinical studies on rehabilitation in DM1 and HSP patients have been conducted. Moreover there is an increasing need to identify innovative rehabilitation approaches, especially for those patients who are more severely compromised and therefore at a greater risk of adverse events. Functional Electrical Stimulation (FES) is a rehabilitative approach that combines electrical stimulation with a functional task. Several studies performed on patients with cerebrovascular disease or spinal cord lesions evidenced the positive effects of this approach in improving muscle mass, and cardiovascular performances. So far, no studies have been conducted on FES in rare diseases.

Objective The main objective of the study is to evaluate the safety and efficacy of FES-cycling in DM1 and HSP.

Design We conducted two controlled pilot studies. In the first we assessed patients with DM1 while in the second subjects with HSP. In each study, participants were divided in two groups matched for clinical variables, who performed two types of treatment: FES cycling training and conventional stretching, resistance and aerobic training. The modified MRC scale, Ashworth scale and functional assessments were performed before and after treatment. Cohen *d* effect size was used for statistical analysis.

Results FES induced lower extremity training was well tolerated and resulted in a greater improvement of tibialis anterior muscle strength ($d= 1,583$ DM1; $d= 0.840$ HSP), overall muscle strength ($d=1,723$ DM1; $d= 0.582$ HSP), spasticity ($d= 1.334$ HSP), walking speed ($d= 0.820$ HSP) and endurance ($d=0,626$ DM1) than conventional training

Conclusions FES might be considered a safe and valid tool to improve muscle function, also in muscles severely compromised in which no other restorative options are available. Confirmation of FES efficacy through further clinical trials is strongly advised.

ABBREVIAZIONI

Distrofia Miotonica di tipo 1	DM1
Paraplegie Spastiche Ereditarie	HSP
Atassia spino-cerebellari	SCA
Atassia spino-cerebellare tipo 1	SCA1
Elettrostimolazione Funzionale	FES
Stimolazione transcranica a correnti continue	tDCS
Stimolazione transcranica a correnti continue cerebellare	ctDCS
Stimolazione transcranica a correnti continue della corteccia motrice primaria	tDCS-M1
Realtà Virtuale	RV
Muscular Impairment Rating Scale	MIRS
Medical Research Council	MRC
Six Minutes Walking Test	6MWT
Tempo di percorrenza dei 10 metri	10 MWT

1. INTRODUZIONE	9
I.I Premessa	9
1.1 Le Patologie neuromuscolari e neurodegenerative: aspetti clinici e molecolari	10
1.1.1 La Distrofia Miotonica di tipo 1	10
1.1.2 Le Paraparesi Spastiche Ereditarie	13
1.1.3 Le Atassie Spinocerebellari a trasmissione autosomica dominante	27
1.2 Le metodiche innovative in neuroriabilitazione	32
1.2.1 Elettrostimolazione Funzionale (FES)	32
1.2.2 La Stimolazione Transcranica a correnti continue(tDCS)	35
1.2.3 La Realtà Virtuale (RV)	37
2. OBIETTIVI	39
3. PUBBLICAZIONI E CONTRIBUTI SCIENTIFICI	41
4. RISULTATI	43
4.1 Effetti dell'Elettrostimolazione Funzionale nella DM1. Uno studio pilota controllato	43
4.1.1 Introduzione	44
4.1.2 Pazienti e Metodi	46
4.1.3 Risultati	51
4.1.4 Discussione	58
4.2 La FES-cycling nelle Paraparesi Spastiche Ereditarie: effetti sulla spasticità e sull'ipostenia muscolare. Uno studio pilota controllato	62
4.2.1 Introduzione	62
4.2.2 Pazienti e Metodi	63
4.2.3 Risultati	66
4.2.4 Discussione	70
5. ATTIVITA' IN CORSO – CASE REPORT	73
5.1 Differenti effetti della ctDCS e della tDCS-M1 nell'Atassia Spino-Cerebellare di tipo 1	73
5.1.1 Case Report	74
5.1.2 Risultati	79
5.1.3 Discussione	85
6. CONCLUSIONI	87
7. BIBLIOGRAFIA	89
ALLEGATI	

1. INTRODUZIONE

I.1 Premessa

Le malattie neuromuscolari e neurodegenerative costituiscono un vasto gruppo di patologie rare per le quali attualmente non sono disponibili efficaci interventi terapeutici in grado di modificarne il decorso. Benchè la prevalenza di ciascuna patologia non sia superiore allo 0,05 per cento della popolazione, ossia 5 casi su 10.000 persone, le malattie rare nel loro insieme costituiscono un problema sanitario importante in quanto interessano un numero rilevante di persone e famiglie. La rete Orphanet Italia stima che nel nostro Paese circa 2 milioni di persone ne siano affette ed il loro numero tenderà ad aumentare in seguito ai progressi ed all'affinarsi delle metodiche diagnostiche e di ricerca genetica. Diverse strategie terapeutiche, quali oligonucleotidi antisense, small interference RNA (Si-RNA), piccole molecole, si stanno attualmente sviluppando per cercare di contrastare le alterazioni genetico-molecolari alla base di molteplici malattie rare. L'efficacia e la sicurezza di tali interventi sono attualmente ancora in fase di studio. Le metodiche riabilitative sono sempre state mirate all'acquisizione di strategie di compenso del deficit neurologico, al fine di determinare un miglioramento funzionale nell'ambito delle attività della vita quotidiana. Solo di recente, grazie al progredire delle conoscenze sulla plasticità del sistema nervoso e muscolare ed all'avanzare delle tecnologie riabilitative, la Neuroriabilitazione si è indirizzata verso la riduzione e/o il recupero del deficit neurologico specifico della malattia. Le opportunità riabilitative attualmente disponibili in ambito neuromotorio, non sono ancora sufficientemente studiate dal punto di vista clinico. Inoltre c'è l'esigenza di individuare e ricorrere a metodiche riabilitative innovative, basate sui meccanismi neurofisiologici della plasticità e dell'apprendimento. L'obiettivo generale del presente studio è quello di valutare la sicurezza e l'efficacia di alcune tecnologie riabilitative innovative nel migliorare le performances motorie nelle

seguenti patologie rare: Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1), Paraparesi Spastiche Ereditarie (HSP), Atassia Spinocerebellare di tipo 1 (SCA1).

1.1 Le Patologie neuromuscolari e neurodegenerative: aspetti clinici e molecolari

1.1.1. La Distrofia Miotonica di tipo 1

La Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1; OMIM 160900), nota anche come malattia di Steinert, dal medico tedesco che per primo la descrisse nel 1909, è la più frequente distrofia muscolare dell'adulto. La prevalenza globale varia da 0.5 a 18.1/100.000 nella popolazione generale, con stime in Italia pari a 2/100.000. La DM1 è una malattia a trasmissione autosomica dominante causata dall'espansione instabile di una tripletta CTG ripetuta sulla regione 3'UTR non codificante del gene DMPK sul Cromosoma 19q13.3. [1,2]. Nella popolazione generale il numero di ripetizioni CTG è compreso tra 5 e 37 mentre negli individui affetti può variare da 50 ad oltre 1000. Nella DM1 l'entità dell'espansione viene comunemente distinta in tre classi: *Classe E1* 50-150 ripetizioni CTG; *Classe E2* 150-1000 ripetizioni CTG; *Classe E3* >1000 ripetizioni CTG. Come per tutte le malattie da espansione di triplette, la gravità della malattia correla in genere con la severità del difetto genetico. E' frequente inoltre il fenomeno dell'anticipazione caratterizzato dall'esordio più precoce e dal fenotipo più severo da una generazione all'altra.

I meccanismi molecolari alla base delle DM1 sono estremamente complessi. Il difetto genetico determina la formazione di un RNA "tossico" che contiene sequenze ripetute CUG e che, accumulandosi nel nucleo cellulare sotto forma di inclusioni ribonucleari, causa un'alterazione dello splicing alternativo di molteplici geni. [3] Le triplette CUG ripetute interagiscono infatti con specifiche RNA binding-proteins che regolano lo splicing del pre-mRNA di molteplici proteine. Alcuni gruppi di proteine sono

principalmente coinvolte: la famiglia delle proteine muscleblind-like (MBNL) e le CUG-binding protein 1 (CUGBP1).[4] Mentre le MBNL vengono sequestrate nel nucleo perdendo la loro funzione, le CUGBP1 vanno invece incontro ad un processo di up-regolazione. Le proteine CUGBP1 e MBNL sono regolatori antagonisti dello splicing alternativo e promuovono rispettivamente l'espressione di isoforme fetali delle proteine prima della nascita e l'espressione delle isoforme adulte dopo la nascita. Il loro squilibrio funzionale, nei soggetti con DM1, determina pertanto un pattern di splicing embrionale con espressione nell'adulto di isoforme proteiche fetali. Molteplici sono le proteine coinvolte, quali ad esempio, quelle che codificano per il recettore dell'insulina (IR2), il canale del cloro (CIC2), la troponina cardiaca (cTNNT2).

Dal punto di vista clinico la DM1 è una patologia multisistemica con coinvolgimento del muscolo scheletrico, del muscolo cardiaco, del sistema endocrino, dell'occhio, del muscolo liscio e del sistema nervoso centrale. Sul versante muscolare la DM1 è caratterizzata da fenomeno miotonico, fatica, ipostenia ed atrofia muscolare. Il fenomeno miotonico è la difficoltà a rilasciare la muscolatura dopo contrazione protratta sia volontaria (miotonia spontanea) che meccanica (miotonia da percussione). I distretti muscolari più coinvolti sono quelli della mano, dell'avambraccio e della lingua. La miotonia, che tende a migliorare con il caldo e con la ripetizione del movimento ("warm-up phenomenon"), è causata dalle alterazioni dello splicing del pre-mRNA del gene CLCN1 che codifica per il canale del Cloro di tipo 1 (CIC-1). CIC-1 è un canale voltaggio dipendente la cui funzione è quella di permettere il flusso dell'anione Cloro attraverso la membrana cellulare in modo da stabilizzare il potenziale di membrana a riposo e regolare l'eccitabilità muscolare. L'atrofia e l'ipostenia muscolare coinvolgono il distretto craniale con ptosi palpebrale, disartria e disfagia; il collo; i muscoli respiratori con insufficienza respiratoria; la muscolatura degli arti con interessamento inizialmente distale e

successivamente prossimale. Il coinvolgimento degli arti superiori determina difficoltà nei movimenti di manualità fine che interferisce negativamente con l'esecuzione delle comuni attività quotidiane. A livello degli arti inferiori è molto precoce e severo il coinvolgimento del muscolo tibiale anteriore con comparsa di piede cadente, andatura steppante e rischio di caduta notevolmente aumentato rispetto alla popolazione generale. [5,6] Per quanto concerne le manifestazioni extramuscolari, il coinvolgimento del cuore, con particolare riferimento al sistema di conduzione, appare quello più rilevante. Elevatissimo è il rischio di sviluppare aritmie, che costituiscono in questi pazienti la seconda causa di morte dopo l'insufficienza respiratoria. [7-10] Il 65% dei pazienti presenta allungamento dell'intervallo PR o della durata del complesso QRS. I difetti di conduzione sono progressivi e possono determinare una severa bradicardia o l'asistolia dovuta ad un blocco atrio-ventricolare. Le tachicardie atriali (flutter, fibrillazione, tachicardia sinusale) sono frequenti ed anche il rischio di tachicardie ventricolari è elevato. Sebbene la contrattilità cardiaca sia relativamente preservata, si può osservare anche la comparsa di scompenso cardiaco. Il 10% circa dei pazienti ha segni clinici o ecocardiografici di una disfunzione sistolica del ventricolo sinistro (LVSD). LVSD è rara prima dei 40 anni, ma dopo questa età la frequenza tende ad aumentare progressivamente raggiungendo il 30% all'età di 70 anni. [11] Il coinvolgimento del Sistema Nervoso centrale è caratterizzato da disturbi del sonno quali l'ipersonnia diurna [12,13], e da alterazioni cognitive e comportamentali. [14-16] Queste ultime possono comprendere ansietà, apatia, comportamento evitante, scarsa consapevolezza di malattia, deficit delle funzioni esecutive e visuospatiali. La Risonanza magnetica cerebrale può mostrare alterazioni dell'intensità di segnale della sostanza bianca a livello dei poli temporali e delle regioni frontali. [17,18] Altre manifestazioni sistemiche sono l'elevata frequenza di cataratta, colelitiasi, dismotilità intestinale, ipogonadismo diabete mellito, alterazioni

della funzionalità epatica e del metabolismo lipidico. I paziente presentano anche un aumentato rischio di sviluppare neoplasie, specialmente a livello di tiroide, ovaio colon, endometrio ed encefalo. [19]

1.1.2 Le Paraparesi Spastiche Ereditarie

Le Paraparesi Spastiche Ereditarie (HSP) sono un gruppo clinicamente e geneticamente eterogeneo di malattie neurodegenerative caratterizzate da ipostenia e spasticità agli arti inferiori a carattere progressivamente ingravescente. [20,21]] La spasticità è un disordine motorio caratterizzato da un aumento velocità dipendente del tono muscolare, con iperattività della risposta tendinea, conseguente ad una ipereccitabilità del riflesso da stiramento. [22] Tutti i distretti muscolari degli arti inferiori sono coinvolti causando gravi alterazioni della deambulazione. In maniera particolare possono essere interessati il muscolo gastrocnemio, con tendenza a camminare sulla punta dei piedi, il muscolo quadricipite femorale con difficoltà a flettere le ginocchia ed i muscoli adduttori con tendenza ad incrociare nel gambe nel corso del passo.

L'età di esordio delle HSP è variabile dalla prima infanzia all'età adulta. La prevalenza globale è di circa 1-10/100.000 con stime in Italia di circa 2,7/100.000.

Dal punto di vista clinico le HSPs vengono classificate in forme pure e complicate. [23]

Le Forme pure sono caratterizzate da deficit stenico agli arti inferiori e spasticità, cui si possono associare disturbi urinari, ipopallestesia e perdita del senso di posizione.

Le Forme complicate presentano anche altre manifestazioni neurologiche quali atassia, neuropatie periferiche, demenza, ritardo mentale, sindromi extrapiramidali, epilessia,

disturbi retinici oppure manifestazioni non neurologiche quali reflusso gastroesofageo, cataratta e anomalie della pigmentazione cutanea.

Le HSP possono essere trasmesse con modalità autosomica dominante, recessiva o X-linked. Nella pratica clinica sono frequenti anche i casi sporadici. Sono stati identificati, fino ad oggi, 84 loci di associazione con le HSPs, ma solo per 67 di essi è stato scoperto il gene responsabile di malattia. [24] I geni finora identificati sono denominati con l'acronimo SPG (Spastic Paraplegia Gene) seguito da un numero crescente da 1 a 72, assegnato in base all'ordine di identificazione. Fra le forme a trasmissione autosomica dominante, quelle più frequenti sono SPG4 (40%), SPG3A (10%), SPG31 (4.5%) ed SPG10(2.5%); in circa il 38% dei casi il gene è sconosciuto. Le forme recessive più frequenti sono SPG11 (21%), SPG5 ed SPG7 (7%), SPG15(4%) e SACS (3%); nel 53% dei casi il gene non è stato identificato.

Le forme di HSP finora identificate con le loro caratteristiche cliniche e genetiche, tratte dal recente lavoro di Tesson et al [20] sono riportate nelle seguenti tabelle.

Table 2 HSP genes and their associated phenotypes

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	C	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG1 (X-linked)	Xq28 <i>LICAM</i> (308840)	Congenital	Pure (P) or Complex (C) forms	C	MASA syndrome (Mental retardation, Aphasia, Shuffling gait and Adducted thumb) or CRASH syndrome (Corpus callosum hypoplasia, Retardation, Adducted thumb, Spastic paraplegia and Hydrocephalus) (303350)	Agnesis of the corpus callosum and hydrocephalus	Rosenthal et al. (1992); Jouet et al. (1994)	Hydrocephaly (307000); Corpus callosum agenesis (304100)
SPG2 (X-linked)	Xq22.2 <i>PLP1</i> (300401)	Variable	P or C	P or C	Spastic paraplegia with nystagmus, cerebellar dysfunction, hypotonia, MR and sometimes dementia or seizures (312920)	WMH	Cremers et al. (1987); Saugier-Verber et al. (1994)	Pelizaeus-Merzbacher disease (312080)
SPG3/SPG3A (AD/AR)	14q22.1 <i>ATL1</i> (606439)	<1 to 51 (mainly <10)	P (C)	P (C)	Pure form, rarely with axonal neuropathy or amyotrophy, incomplete penetrance (182600)	Normal (one family with late onset and TCC)	Zhao et al. (2001)	Hereditary sensory neuropathy type ID, AD (613708)
SPG4 (AD)	2p22.3 <i>SPAST</i> (604277)	1–80	P (C)	P (C)	Pure, rarely with cognitive impairment or neuropathy; epilepsy, ataxia and ALS in one family, incomplete penetrance (182601)	Normal (WMH in one family)	Hazan et al. (1999)	
SPG5/SPG5A (AR)	8q12.3 <i>CYP7B1</i> (603711)	4–47	P or C	P or C	Pure or with cerebellar signs, nystagmus, cognitive impairment and amyotrophy (270800)	Normal (rarely WMH)	Tsaousidou et al. (2008)	Bile acid synthesis defect (613812); Sensory ataxia
SPG6 (AD)	15q11.2 <i>NIPA1</i> (608145)	8–37	P (C)	P (C)	Pure, rarely with neuropathy or epilepsy or memory impairment (600363)	Normal	Schüle et al. (2010); Rainier et al. (2003)	
SPG7 (AR)	16q24.3 <i>SPG7</i> (602783)	4–42	P or C	P or C	Pure or with optic neuropathy or cerebellar ataxia (607259)	Normal or cerebellar atrophy	Casari et al. (1998); Wedding et al. (2014)	Optic neuropathy, AD; Late-onset ataxia susceptibility, AD
SPG8 (AD)	8q24.13 <i>KIF5A</i> (610657)	10–60	P (C)	P (C)	Mito DNA deletions, defects in Mito respiration Rarely complex with neuropathy (603563) Decreased Cho & Cr/NAA peak at PMRS	Normal, or few white matter abnormalities and atrophy of the thoracic spinal cord	Valdmanis et al. (2007); Wang et al. (2014)	Ritscher-Schinzel syndrome, AR (220210)
SPG9 (AD)	10q23.3-q24.2	1–30	C	C	Bilateral cataracts, gastroesophageal reflux, neuropathy, amyotrophy (601162)	Normal (atrophy limited to spinal cord)	Seri et al. (1999)	
SPG10 (AD)	12q13.3 <i>KIF5A</i> (602821)	2–51	P or C	P or C	Pure or with neuropathy (Silver syndrome) (604187)	Normal	Reid et al. (2002)	
SPG11 (AR)	15q21.1 <i>KIF1A</i> (610844)	<1 to 33	P or C	P or C	Mostly complex with cognitive decline, neuropathy, retinopathy (Kjellin syndrome) and cerebellar signs (604360)	TCC, WMH and cerebellar atrophy	Stevannin et al. (2007b)	Juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS-5), Orlicchio et al. (2010)
SPG12 (AD)	19q13.32 <i>RTN2</i> (603183)	7–24	P	P	Pure (604805)	Normal or with WMH	Montenegro et al. (2012)	

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG13 (AD)	2q33.1 <i>HSPD1</i> (118190)	17–68	P	Pure (605280)	Normal	Hansen et al. (2002)	Hypomyelinating leukodystrophy type 4, AR (612233)
SPG14 (AR)	3q27–q28	~30	C	Distal motor neuropathy, mild MR, visual agnosia, and memory deficiency (605229)	Normal	Vazza et al. (2000)	
SPG15 (AR)	14q24.1 <i>ZFYVE26</i> (612012)	4–19	P or C	Mostly complex with cognitive decline, neuropathy, retinopathy (Kjellin syndrome) and cerebellar signs (270700)	TCC, WMH and cerebellar atrophy	Hanein et al. (2008)	
SPG16 (X-linked)	Xq11.2	Early infancy	P or C	Pure or complex with quadriplegia, motor aphasia, mild Delayed myelination MR, and bowel and bladder dysfunction (300266)	Delayed myelination	Steinmüller et al. (1997) Tamagaki et al. (2000)	
SPG17 (AD)	11q12.3 <i>BSC12</i> (606158)	2–60	C	Silver syndrome: neuropathy, amyotrophy (270685)	Normal	Magré et al. (2001); Windpassinger et al. (2004)	Congenital lipodystrophy type 2, AR (260700); Hereditary motor neuropathy type VA, AD (600794); Progressive encephalopathy, AR (615924)
SPG18 (AR)	8p11.23 <i>ERLIN2</i> (611605)	<2	C	ID and contractures (611225)	Normal	Yildirim et al. (2011)	Juvenile primary lateral sclerosis, AR
SPG19 (AD)	9q33–q34	36–55	P	Pure (607152)	Normal	Valente et al. (2002)	
SPG20 (AR)	13q12.3 <i>SPG20/ KIAA0610</i> (607111)	Infancy	C	Troyer Syndrome: dysarthria, distal amyotrophy in hands and feet, cerebellar signs, mild ID and skeletal abnormalities (short stature) (275900)	WMH	Patel et al. (2002)	
SPG21 (AR)	15q22.31 <i>SPG21/ ACP33</i> (608181)	Adulthood	C	Mast syndrome: speech decline leading to akinetic mutism, personality disturbances, psychotic episodes, cognitive decline and cerebellar dysfunction (incoordination and dysidiadochokinesia). For a Japanese family: cognitive decline and apraxia (248900)	TCC, WMH and cerebellar atrophy	Simpson et al. (2003)	
SPG22 (X-linked)	Xq13.2 <i>SLC16A2</i> (300095)	Early infancy	C	Allan–Herndon–Dudley syndrome: spastic quadriplegia, severe MR, central hypotonia, muscle hypoplasia, dystonia, ataxia (300523) Abnormal relative concentrations of circulating iodothyronines	Normal or most often delayed myelination with sometimes TCC and mild cortical atrophy	Dumitrescu et al. (2004) Schwartz et al. (2005)	

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG23 (AR)	1q24-q32	Infancy	C	Lison syndrome: abnormal skin and hair pigmentation, ± dysmorphism, skeletal deformities, MR or sensorimotor neuropathy (270750)	Normal or slight enlargement of the ventricles with ± microcephaly	Blumen et al. (2003)	
SPG24 (AR)	13q14	Infancy	P	Pure (607584)	Normal	Hodgkinson et al. (2002)	
SPG25 (AR)	6q23-24.1	30-46	C	Mild sensorimotor neuropathy (608220)	Spinal disc herniation with minor spondylosis	Zortea et al. (2002)	
SPG26 (AR)	12q13.3 <i>B4GALNT1</i> (601873)	2-19	C	ID, cerebellar ataxia, peripheral neuropathy, and one family presents behavioral problems (609195) Decreased GM2 and increased GM3 in fibroblasts. Low testosterone level in men	Normal or after long disease duration cortical and subcortical atrophy and/or WMH	Boukhris et al. (2013) Harilalka et al. (2013)	
SPG27 (AR)	10q22.1-q24.1	P: 25-45 C: 2-7	P or C	Pure or with sensorimotor polynuropathy and sometimes with MR, cerebellar signs and skeletal abnormalities (609041)	Normal or mild cortical and cerebellar atrophy	Meijer et al. (2004) Ribai et al. (2006)	
SPG28 (AR)	14q22.1 <i>DDHD1</i> (614603)	7-15	P or C	Pure or with cerebellar oculomotor disturbances or axonal neuropathy (609340) Ventricular lactate accumulation and reduction of PCr/Pi ratio in muscles	Normal	Tesson et al. (2012) Liguori et al. (2014)	
SPG29 (AD)	1p31.1-21.1	Infancy	C	Neonatal hyperbilirubinemia, hearing impairment due to auditory neuropathy and persistent vomiting due to hiatal hernia (609727)	Normal	Orlacchio et al. (2005)	
SPG30 (AR)	2q37.3 <i>KIF1A</i> (601255)	10-39	P or C	Pure or with sensory neuropathy and cerebellar ataxia (610357)	Normal or mild cerebellar atrophy	Erich et al. (2011); Klebe et al. (2012b)	Complex MR with axial hypotonia, spasticity and cerebellar atrophy, AD (614255); Sensory and autonomic neuropathy, AR (614213)
SPG31 (AD)	2p11.2 <i>REEP1</i> (609139)	Variable	P or C	Pure or sometimes complex with neuropathy (610250)	Normal	Zichner et al. (2006)	Distal hereditary motor neuropathy type VB, AD (614751)
SPG32 (AR)	14q12-q21	6-7	C	Mild MR (611252)	Cerebellar atrophy and pontine dysraphia, moderate ICC	Stevamin et al. (2007a)	

Table 2 continued

SFG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG33 (AD)	10q24.2 <i>ZFYVE27</i> (610248)	42–50	P	Pure (610248)	ND	Mannan et al. (2006)	
SPG34 (X-linked)	Xq24-q25	16–25	P	Pure (300750)	ND	Macedo-Souza et al. (2008)	
SPG35 (AR)	16q23.1 <i>FA2H</i> (611026)	2–17 one family with late onset	C	Dystonia, LL amyotrophy, seizures, cerebellar signs, cognitive decline and optic atrophy (612319) Reduced hydroxylated fatty acid sphingomyelin in fibroblasts and erythrocytes	Leukodystrophy, hypointensities of globus pallidus, TCC and cerebellar atrophy	Edvardson et al. (2008) Dan et al. (2011)	Leukodystrophy/NBIA, AR
SPG36 (AD)	12q23-24	14–33	C	Peripheral sensorimotor neuropathy (613096)	Normal	Schüle et al. (2009a)	
SPG37 (AD)	8p21.1-q13.3	8–60	P	Pure (611945)	Normal	Hanein et al. (2007)	
SPG38 (AD)	4p16-p15	16–19	P	Clinical features similar to SPG4 (612335)	ND	Orlacchio et al. (2008)	
SPG39 (AR)	19p13.2 <i>PNPLA6</i> (603197)	Infancy, adolescence	C	Muscle wasting and motor axonopathy of the LL and UL (612020)	Normal	Rainier et al. (2008); Synofzik et al. (2014)	Boucher-Neuhauser syndrome (215470); Gordon Holmes syndrome; Spastic ataxia
SPG41 (AD)	11p14.1-11p.2	Mean 17 ± 3	P	Pure (613364)	Normal	Zhao et al. (2008)	
SPG42 (AD)	3q25.31 <i>SLC33A1</i> (603690)	4–42	P	Pure (612539)	Normal	Lin et al. (2008)	Congenital cataracts, hearing loss and neurodegeneration, AR (614482)
SPG43 (AR)	19p13.11-q12 <i>C19orf12</i> (614297)	7–12	C	Neuropathy and severe atrophy and decreased sensation in the arms and legs (615043)	Normal	Landouré et al. (2013)	NBIA4 (614298); Pallido-pyramidal syndrome
SPG44 (AR)	1q42.13 <i>GJC2</i> (608803)	1st or 2nd decade	C	Dysarthria, cerebellar ataxia, mental impairment (613206) Reduced Cho/NAA and Cho/Cr ratios	WMH	Uhlenberg et al. (2004) Orthmann-Murphy et al. (2009)	Pelizaeus-Merzbacher-like hypomyelinating leukodystrophy (608804); Hereditary lymphedema, AD (613480)
SPG45 (AR)	10q24.3-q25.1	Infancy	C	MR and ocular signs (613162)	ND	Dursun et al. (2009)	
SPG46 (AR)	9p13.3 <i>GBA2</i> (609471)	1–16	C	Cerebellar ataxia, cataract and mental impairment, infertility in males (614409) GBA2 activity abolished in lymphoblasts and leukocytes	TCC, cerebellar and cerebellar atrophy	Martin et al. (2013)	Spastic ataxia

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG47 (AR)	1p13.2 <i>AP4BI</i> (607245)	Birth	C	Severe ID, absent speech, shy character, stereotypic laughter, muscular hypotonia, microcephaly, foot deformity, decreased muscle mass and growth retardation (614066)	Periventricular WMH and TCC	Abou Jamra et al. (2011) Bauer et al. (2012)	
SPG48 (AR)	7p22.1 <i>AP5ZI</i> (613653)	2–50	P or C	Pure or with cognitive impairment or MR (613647)	Normal or TCC and WMH	Stabicki et al. (2010)	
SPG49 ^a (denoted SPG56 by OMIM)	4q25 <i>CYP2U1</i> ^a (615030)	<1–8	P or C	Mental impairment, dysarthria, dystonia and infraclinical axonal neuropathy (615030)	Normal or TCC, WMH and basal ganglion calcifications	Tesson et al. (2012)	
SPG50 (AR)	7q22.1 <i>AP4MI</i> (602292)	Infancy	C	Tetraplegic cerebral palsy with MR (612936)	WMH and cerebellar atrophy	Verkerk et al. (2009)	
SPG51 (AR)	15q21.2 <i>AP4EI</i> (607244)	Infancy	C	Similar to SPG47 (613744)		Abou Jamra et al. (2011)	
SPG52 (AR)	14q12 <i>AP4SI</i> (607243)	Infancy	C	Similar to SPG47 (614067)		Abou Jamra et al. (2011)	
SPG53 (AR)	8p22 <i>VPS37A</i> (609927)	1–2	C	Developmental and motor delay, delays in cognition and speech, marked kyphosis (614898)	Normal or mild WMH and mild ventriculo-megaly	Zivony-Elboun et al. (2012)	
SPG54 (AR)	8p11.23 <i>DDHD2</i> (615003)	<2	C	ID or developmental delay, dysarthria, cerebellar signs and short stature (615033)	TCC, WMH and spinal syrinx	Schuurs-Hoeijmakers et al. (2012)	
SPG55 (AR)	12q24.31 <i>C12orf65</i> (613541)	2–7	C	Pathologic lipid peak at 1.3 ppm in brain Optic atrophy, muscle atrophy and neuropathy or ID, neuropathy and ophthalmoplegia (615035) Decreased complex I and IV and sometimes V of the respiratory chain According to OMIM see SPG49 ^a	Normal or TCC and WMH	Shimazaki et al. (2012)	Combined oxidative phosphorylation deficiency 7 (Leigh syndrome) (613543)
SPG56 ^a (AR)	4q25 <i>CYP2U1</i> ^a (615030)						

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG57 (AR)	3q12.2 <i>TFG</i> (602498)	Infancy	C	Optic atrophy and axonal demyelinating motor neuropathy (615658)	Normal	Ishiura et al. (2012) Beetz et al. (2013)	Chondrosarcoma extraskeletal myxoid, fused genes NR4A3/TFG (612237); Motor and sensory neuropathy, AD (604484)
SPG58 (AR, AD?)	17p13.2 <i>KIF1C</i> (603060)	2–4	P or C	Mostly complex with ataxia, dysarthria, extrapyramidal chorea, hypotonia, developmental delay or MR and sometimes short stature. Mild phenotype at heterozygous state	Normal or WMH	Dor et al. (2014) Novarino et al. (2014) Caballero Oteyza et al. (2014)	Spastic ataxia SPAX2 (611302)
SPG59 (AR)	15q21.2 <i>USP8</i> (603158)	Infancy	C	Nystagmus, pes equinovarus and mild MR	Normal	Novarino et al. (2014)	
SPG60 (AR)	3p22.2 <i>WDR48</i> (612167)	Infancy	C	Nystagmus and neuropathy	Normal	Novarino et al. (2014)	
SPG61 (AR)	16p12.3 <i>ARL6IP1</i> (603158)	Infancy	C	Motor and sensory polyneuropathy with acropathy mutilation (615685)	Normal or mild dilatation of lateral ventricles	Novarino et al. (2014)	
SPG62 (AR)	10q24.31 <i>ERLIN1</i> (611604)	Infancy	P	Pure	Normal	Novarino et al. (2014)	
SPG63 (AR)	1p13.3 <i>AMPD2</i> (102771)	Infancy	C	Short stature 615686	WMH, TCC	Novarino et al. (2014)	Pontocerebellar hypoplasia (615809)
SPG64 (AR)	10q24.1 <i>ENTPD1</i> (601752)	1–4	C	Anytropy, cerebellar signs, moderate ID, aggressive-ness, delayed puberty and microcephaly (615683)	WMH	Novarino et al. (2014)	
SPG65 (AR)	10q24.32 q24.33 <i>NT5C2</i> (600417)	Infancy	P or C	Anytropy, pes equinovarus and learning disability (613162)	TCC, WMH or delayed myelination	Novarino et al. (2014)	
SPG66 (AR)	5q32 <i>ARSI</i> (610009)	Infancy	C	Anytropy, pes equinovarus and severe sensory/motor polyneuropathy	Corpus callosum and cerebellar hypoplasia, colpocephaly	Novarino et al. (2014)	
SPG67 (AR)	2q33.1 <i>PGAP1</i> (611655)	<1–4	C	Anytropy	Corpus callosum agenesis, vermis hypoplasia, defective myelination	Novarino et al. (2014)	Complex MR (615802)

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
SPG68 (AR)	11q13.1 <i>F/LRT1</i> (604806)	2–3	C	Optic atrophy, nystagmus, mild amyotrophy and peripheral neuropathy	Normal	Novarino et al. (2014)	
SPG69 (AR)	1q31 <i>RAB3GAP2</i> (609275)	<1	C	Dysarthria, cataract, deafness and ID	Normal	Novarino et al. (2014)	Martsof syndrome: (212720); Wärburg micro syndrome 2 (614225)
SPG70 (AR)	12q13.3 <i>MAKS</i> (156560)	<1	C	Amyotrophy and Achilles tendon contracture	ND	Novarino et al. (2014)	Infantile liver failure syndrome (615486); Charcot–Marie–Tooth disease like presentation, AD
SPG71 (AR)	5p13.3 <i>ZFR</i> (615635)	Infancy	P	Pure	TCC	Novarino et al. (2014)	
SPG72 (AR/AD)	5q31.2 <i>REEP2</i> (609347)	3–4	P	Pure (615625)	ND	Esteves et al. (2014)	
No SPG (AR)	1q21.3 <i>ADAR1</i> (146920)	2	P	Pure Increased interferon level	Normal	Crow et al. (2014)	Aicardi–Goutière syndrome (615010); Dyschromatosis symmetrica
No SPG (AR/AD)	9q22.32 <i>BICD2</i> (609797)	Infancy	P or C	Pure (AD) or complex with amyotrophy (AR)	Normal	Neveling et al. (2013) Oates et al. (2013) Novarino et al. (2014)	AD (127400) Spinal muscular atrophy AD (615290)
No SPG (AR)	5p15.2 <i>CCT5</i> (610150)	Infancy	C	Mutilating sensory neuropathy (256840)	ND	Bouhouche et al. (2006)	
No SPG (AR)	9p13.2 <i>EXOSC3</i> (606489)	Infancy	C	Mild cognitive impairment, nystagmus and distal amyotrophy	Cerebellar atrophy or hypoplasia, and enlarged cisterna magna	Wan et al. (2012) Zanni et al. (2013)	Pontocerebellar hypoplasia (614678)
No SPG (AR)	5p15.1 <i>FAM134B</i> (613114)	2–3	C	Motor and sensory neuropathy with ulcerations of limbs	Normal	Kurth et al. (2009) Ilgaz-Aydinlar et al. (2014)	Sensory and autonomic neuropathy (HSAN2B) (613115)

Table 2 continued

SPG no (HU/GO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features (OMIM no) Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
No SPG (AR)	1q42.13 IBA57 (615316)	3–12	C	Distal amyotrophy, peripheral neuropathy optic nerve atrophy and reduced visual acuity (SPOAN-like phenotype)	Normal or WMH foci sometimes with TCC and cerebellar atrophy.	Lossos et al. (2015)	Multiple mitochondrial dysfunctions syndrome (615330), Ajit Bolar et al. (2013)
No SPG (AR)	2q24.2 IFI/HI (606951)	2	P	Pure Increased Interferon level	Normal	Crow et al. (2014)	Aicardi–Goutière syndrome (615846)
No SPG (AR)	1q42.3 LYST (606897)	Late (48–58)	C	Cerebellar ataxia, peripheral neuropathy and large peroxidase-positive granules in granulocytes	Mild cerebellar atrophy	Shimazaki et al. (2014)	Chediak–Higashi syndrome (214500)
No SPG (AR)	19q13.1 MAG (159460)	Infancy	C	Cerebellar signs, nystagmus, and amyotrophy	Normal	Novarino et al. (2014)	
No SPG (Mito)	MT-ATP6 (516060)	30–50	P or C	Pure or with neuropathy, cerebellar signs and cardiomyopathy	ND	Verny et al. (2011)	Leigh syndrome (551500); Leber optic atrophy (535000); Infantile bilateral striatal necrosis (500003); Epilepsy and lactic acidosis Infantile cardiomyopathy
No SPG (Mito)	MT-CO3 (516050)	Infancy	C	Spastic paraparesis, ophthalmoparesis and lactic acidosis	Basal ganglia hyperintensities (Leigh syndrome-like) and mild cerebral and cerebellar atrophy	Tiraniti et al. (2000)	
No SPG (Mito)	MT-TI (590045)	Adulthood	P or C	Pure with low heteroplasmy levels. Complex with high heteroplasmy levels, with ataxia, deafness, epilepsy, cardiomyopathy and hypogonadism	ND	Corona et al. (2002)	
No SPG (AR)	13q14.3 RNA5EH2B (610326)	18–21 months	P	Pure	Normal	Crow et al. (2014)	Aicardi–Goutière syndrome (610181)
No SPG (AR)	13q11 SACS (604490)	Infancy	C	Spastic ataxia of Charlevoix Saguenay: early childhood onset of cerebellar ataxia, pyramidal tract signs and peripheral neuropathy, ± retinal striations on funduscopy and thickening of the retinal nerve fiber layer on OCT	Atrophy of the superior cerebellar vermis, hyperintensity of corticospinal tracts	Engert et al. (2000)	
No SPG ^a (denoted SPG49 ^a by OMIM) (AR)	14q32.31 TECPR2 ^a (615000)	Infancy	C	Severe ID, rigid ataxic gait, brachycephalic microcephaly, fluctuating central hypoventilation, gastroesophageal reflux disease, wake apnea, areflexia and dysmorphic features (615031)	Ventriculomegaly, TCC, cerebral and cerebellar atrophy	Oz-Levi et al. (2012)	

Table 2 continued

SPG no (HUGO) (inheritance)	Chr Gene (OMIM no)	Age at onset (y)	Pure (P) or Complex (C) forms	Associated clinical features Functional tests, biomarkers	MRI features	References	Allelic disorders (OMIM no) ^b
No SPG (AD)	9p13 VCP (601023)	54–57	C	Case report: hereditary spastic paraplegia with Paget's disease of bone.	Normal	Watts et al. (2004) Debot et al. (2012)	Inclusion body myopathy (167320); Amyotrophic lateral sclerosis (613954)

AD autosomal dominant, ALS amyotrophic lateral sclerosis, AR autosomal recessive, *Chr* chromosome, *Cho/Cr* and *Cho/NAA* ratio choline to creatine or to NAA, CSF cerebrospinal fluid, *GM2/3* gangliosides monosialic 2 and 3, *ID* intellectual disability, *LL* lower limb, *Mito* mitochondrial, *MR* magnetic resonance imaging, *MR* magnetic resonance imaging, *NAA N-acetyl aspartate*, *nb* number, *NBA* neuronal brain iron accumulation disorders, *ND* not described, *OCT* ocular coherence tomography, *PCr/Pi* ratio of phosphocreatine to inorganic phosphate, *PPM* parts per million, *PMRS* proton magnetic resonance spectrometry, *SPOAN* spastic paraplegia, optic atrophy and neuropathy, *TCC* thin corpus callosum, *UL* upper limb, *WMH* white matter hyperintensity, *y* years

^a According to the HUGO nomenclature, SPG49 has been associated with *CYP2U1* mutations and SPG56 has not been associated to a specific gene. According to the OMIM numbering, SPG49 has been associated to *TECPR2* mutations and SPG56 to *CYP2U1* mutations

^b Inheritance mode is indicated when it differs from the one described in families with spasticity

In considerazione del fatto che attualmente non è sempre possibile identificare il gene di malattia, prima di porre diagnosi di HSP è necessario escludere altre patologie, come riportato nella tabella sottostante.

Table 1 List of the most important differential diagnoses to hereditary spastic paraplegia with suggested supplementary investigations

Type of disease	Disease	Investigations	Characteristics other than spasticity and Babinski sign ^b
Structural anomalies and trauma	Arnold–Chiari malformation	Brain and spine MRI	Ataxia, dizziness, unsteadiness
	Tumor	Brain and spine MRI	Headache if brain tumor, other focal symptoms
	Spinal cord vascular malformation	MRI/spinal angiography	Fluctuating symptoms/sudden onset
	Vertebral disorders with myelopathy	Spine MRI	Sensory symptoms, pain
	Spinal cord injury	Spine MRI	Sudden onset, trauma
Inflammatory	Primary progressive or relapsing–remitting multiple sclerosis	Brain and spine MRI, CSF investigations including immunoelectrophoresis (evoked responses)	Symptoms from different topographic regions
Neurodegenerative	Spinocerebellar ataxias	Genetic screening, brain MRI	Ataxia
	Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and primary lateral sclerosis (PLS)	Spine and brain MRI, neurography, electromyography, CSF investigations	Often bulbar signs and rapid progression, weakness, increased reflexes. In ALS; upper and lower motor neuron signs
Acquired	Diplegic cerebral palsy (Little disease)	Brain MRI, antenatal, birth or postnatal history	Non-progressive
Infectious	Neurosyphilis	Syphilis serology/CSF investigations	Acute/subacute, and chronic, laboratory findings, often peripheral nervous system findings
	HTLV-1 infection (tropical spastic paraparesis)	Scrum/CSF HTLV-1 antibodies	Subacute onset, laboratory findings
	Acquired immune deficiency syndrome (AIDS)	HIV test	Subacute onset, laboratory findings
	Neuroborreliosis	Serology/CSF investigations	Subacute onset, laboratory findings and/or symptoms from other topographic regions other than upper motor neuron
Metabolic ^a	Leukodystrophies		
	X-linked adrenoleukodystrophies	Brain MRI, measurement of very long-chain fatty acids in plasma	Neuropathy, cognitive decline, white matter changes
	Metachromatic leukodystrophy (late-onset forms)	Brain MRI, arylsulphatase A dosage	Neuropathy, behavioral signs and regression
	Hereditary CNS demyelinating disease		
	Krabbe leukodystrophy (late-onset forms)	Brain MRI, galactocerebrosidase deficiency	Neuropathy, regression
	Pelizaeus–Merzbacher disease	Brain MRI	Nystagmus, ataxia, developmental delay
	Canavan disease	Brain MRI, excessive urinary NAA excretion	Blindness, severe mental defect, megaloccephaly
	Leukoencephalopathy with vanishing white matter	Brain MRI	Also known as childhood ataxia with central nervous system hypomyelination (CACH) or vanishing white matter disease
Alexander disease	Brain MRI	Seizures, megalencephaly, developmental delay; In older patients, bulbar or pseudobulbar signs	
Sjögren–Larsson syndrome (progressive forms)	Brain MRI, low fatty aldehyde dehydrogenase activity	Ichthyosis, mental retardation, macular dystrophy and leukoencephalopathy	

Table 1 continued

Type of disease	Disease	Investigations	Characteristics other than spasticity and Babinski sign ^b
	Refsum disease	Brain MRI, accumulation of an unusual branched-chain fatty acid, phytanic acid, in blood and tissues	Retinitis pigmentosa, peripheral neuropathy, cerebellar ataxia
	Cerebrotendinous xanthomatosis	Brain MRI, deposits of cholesterol and cholestanol in virtually every tissue	Cerebellar ataxia beginning after puberty and pseudobulbar phase leading to premature death
	Subacute combined degeneration of the cord and anemia/Lichtheim disease	Blood cell counts, vitamin B12 dosage, Schilling test (vitamin B12 absorption)	Neuropathy, anemia
	Amino acid disorders, e.g., Arginase deficiency	Plasma arginine level, aminoaciduria, genetic screening	Developmental delay, intellectual disability, seizures, tremor, ataxia, fluctuating symptoms
	Mitochondrial disorders	Lactate and pyruvate levels in blood and CSF, muscle biopsy	Dependent of the heteroplasmy levels, symptoms from different organs (multisystemic)
	Abetalipoproteinemia	Lipoprotein electrophoresis	Neuropathy, ataxia
	Vitamin E deficiency	Serum vitamin E level	Often with neuropathy and ataxia
	Dystonia (including dopa-responsive dystonias)	L-Dopa trial, neurotransmitter investigations in CSF, CSF/serum glucose ratio for GLUT1 deficiency, genetic screening (heterozygous <i>GCH1</i> mutations and to a lesser extent biallelic <i>TH</i> and <i>SPR</i> mutations for dopa-responsive forms, heterozygous <i>SLC2A1</i> mutations in <i>DYT9</i> /GLUT1)	Early-onset, fluctuating symptoms/diurnal variation
Brain metal accumulation disorders	Wilson disease (progressive forms)	Brain MRI, serum copper and ceruloplasmin, 24-h urine copper; liver tissue biopsy	Basal ganglia dysfunction symptoms
	Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)	Brain MRI, genetic screening (particularly <i>PANK2</i> , <i>COASY</i> , <i>PLA2G6</i> , <i>ATP13A2</i> , <i>WDR45</i> and allelic HSP forms; <i>FA2H/SPG35</i> , <i>C19orf12/SPG43</i>)	Early onset and rapid progression particularly in <i>PANK2</i> mutated patients, dystonia, central region of hyperintensity in the globus pallidus with surrounding hypointensity on T2-weighted images ("eye-of-the-tiger sign")
Toxic causes	Neurolethyrism	Epidemical context, Africa	Ingestion of certain vegetables of the genus <i>Lathyrus</i> (peas...), subacute
	Konzo	Epidemical context, Africa	Inappropriate preparation and ingestion of cassava roots, onset less than one week later, non-progressive
	Heavy metals (copper, manganese, lead)	Brain and spine MRI, CSF investigations	Diffuse clinical picture, exposure context to heavy metals

CMS: central nervous system, CSF: cerebrospinal fluid, HIV: human immunodeficiency virus, HTLV-1: Human T cell leukemia/lymphoma virus type 1, MRI: magnetic resonance imaging, NAA: N-acetylaspartic acid

^a The list is not complete, but the main groups with the most important subgroups are mentioned

^b Extensor response of the cutaneous plantar reflex

Le mutazioni dei geni associati ad HSP determinano, con differenti meccanismi patogenetici, un'alterazione del trasporto intracellulare con conseguente degenerazione tipo “*dying-back*” della porzione distale degli assoni che costituiscono il tratto cortico-spinale. Possono essere interessati anche gli assoni del fascicolo gracile e dei tratti spinocerebellari. I geni responsabili delle HSP sono coinvolti infatti nella dinamica dei microtubuli, nella morfogenesi del reticolo endoplasmico, nel controllo della qualità dei mitocondri, nel metabolismo lipidico e nella funzionalità dei lisosomi. [25]

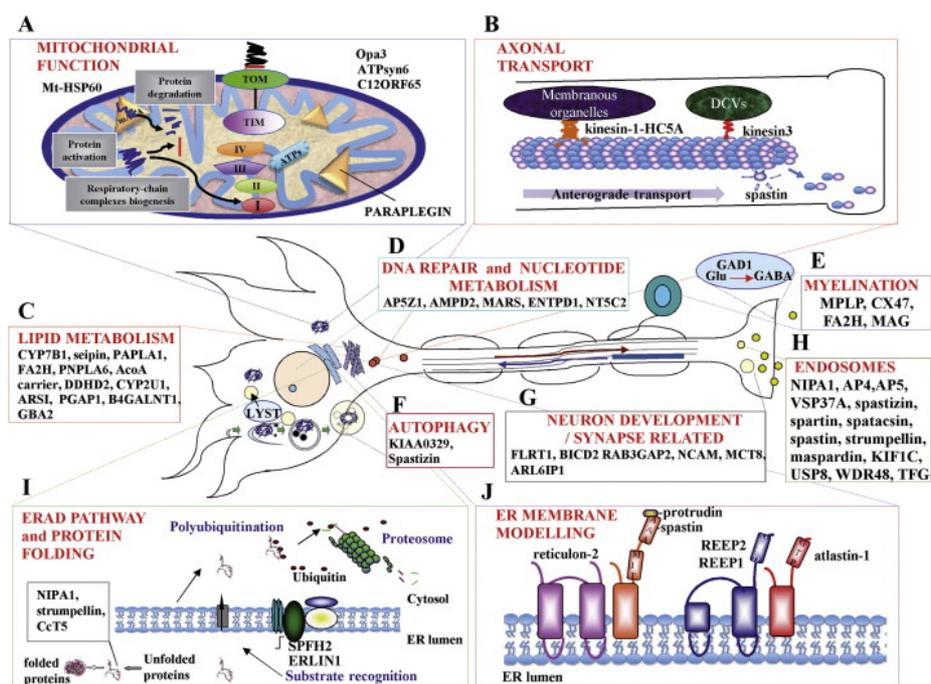


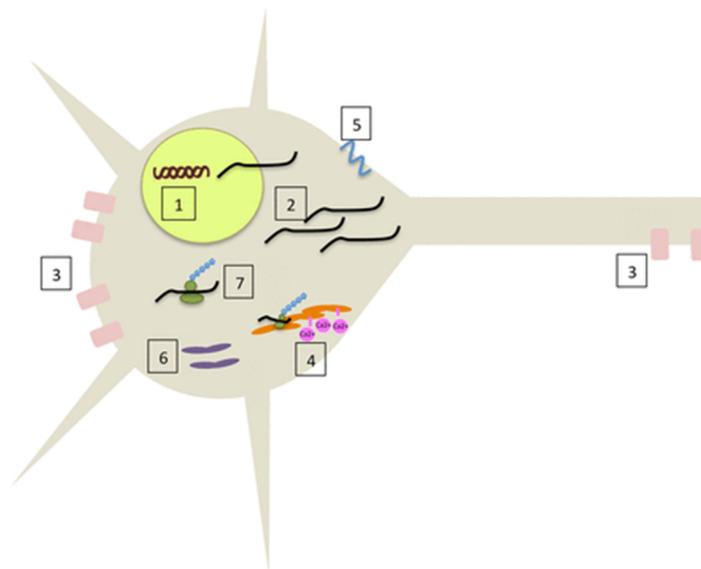
Fig. 1. HSP proteins involved in cellular functions divided into major functional modules. (A) Paraplegin (m-AAA protein) and HSP60 control the removal of damaged or misfolded proteins in mitochondria, respectively; TIM (translocase of the inner membrane) and TOM (translocase of the outer membrane) are mitochondrial membrane transporters for mitochondria-destined proteins. (B) In the axonal transport, spastin is responsible for the disassembly of microtubules acting on the kinesin HC5A and kinesin 3 function in the transport of anterograde cargoes. (C) Proteins implicated in synthesis, metabolism, and distribution of lipids and sterols; ACoA carrier carries acetyl-CoA into the lumen of Golgi apparatus and then it is transferred to the sialyl residues of gangliosides and glycoproteins. (D) AP5Z1 is implicated in DNA double-strand break repair. The other proteins are involved in nucleotide metabolism. (E) MPLP, connexin (Cx) 47, FA2H, and MAG are involved in the stabilization and maintenance of the myelin sheath. (F) KIAA0329 and spastizin participate in the degradation of unnecessary or dysfunctional cellular components through the actions of lysosomes (autophagy). (G) Proteins involved in axon development. (H) Other proteins, such as NIPA1 and AP4 subunits, are involved in the endosomal pathway. (I) The ERAD pathway is regulated by ERLIN1 and SPFH2. Proteins involved in protein folding are in the left of the box. (J) Reticulon-2, spastin, REEP1, and REEP2 are involved in membrane modeling and shaping by interacting each other. In synaptic terminals, GAD1 converts glutamic acid (Glu) into GABA; LYST is a lysosomal trafficking regulator (circles in turquoise). **Lo Giudice et al. Exp. Neurol.2014; 261:518-39**

1.1.3 Le Atassie Spino-Cerebellari Autosomiche dominanti

Le Atassie Spino-Cerebellari a trasmissione autosomica dominante (SCA) sono un gruppo geneticamente e clinicamente eterogeneo di malattie neurodegenerative caratterizzate da degenerazione e disfunzione del cervelletto e delle sue connessioni. [26, 27, 28] Sono attualmente noti 32 tipi di atassie spino-cerebellari autosomiche dominanti che vengono identificati con l'acronimo SCA seguito da un numero progressivo da 1 a 36. Solo per 22 tipi di SCA è stato scoperto il gene responsabile di malattia. Differenti tipi di mutazione sono stati descritti: 1) mutazioni classiche (puntiformi, frameshift, delezioni, e duplicazioni); 2) espansione della tripletta CAG codificante per la glutamina; 3) espansione di triplette non codificanti.

Queste mutazioni determinano con diversi meccanismi patogenetici (Fig.2), la degenerazione delle cellule di Purkinje nel cervelletto.

Fig.2



Overview of the spinocerebellar ataxia (SCA) disease mechanisms. 1: Transcriptionopathies (SCA1, 2, 3, 6, 7, 17). 2: Non-coding repeat expansions/RNA toxicity (SCA8, 10, 12, 31-36). 3: Voltage-gated potassium channel dysfunction (SCA13, 19/22). 4: ITPR1 loss (SCA15/16). 5: β 3-Spectrin dysfunction (SCA5). 6: Mitochondrial dysfunction (SCA28). 7: Individual protein dysfunction (SCA11, 14, 23, 26, 27, 35).

Hekman KE et al. JNNP 2015; 86: 554-561

Dal punto di vista clinico le SCA possono essere classificate in forme pure o miste. [29]
 Le Forme pure sono caratterizzate unicamente da atassia cerebellare. Nelle Forme miste si riscontra invece l'associazione di atassia con altri deficit neurologici quali disordini piramidali ed extrapiramidali, oftalmoplegia, neuropatie periferiche, deficit cognitivi. Le Tabelle 3-6, tratte dal lavoro di KE Hekman et al [26], mostrano le principali caratteristiche cliniche e neuroradiologiche dei diversi tipi di SCA.

Tabella 3 SCA: Caratteristiche cliniche delle forme miste

SCA	Phenotype	Age of onset: mean (range)	Predominant geographical distribution ⁵
<i>Mixed</i>			
SCA1	CA/spasticity/ophthalmoplegia ⁶	33 (4–74) ^{7 38}	South Africa, India, Japan, Italy, Australia
SCA2	CA/dystonia/parkinsonism/arreflexia/loss of saccades ³⁹	32 (1–65) ^{39 40}	USA, Spain, India, Mexico, Italy
SCA3	CA/dystonia/spasticity/peripheral neuropathy/sleep disorders ⁴¹	36 (5–70) ^{10 41}	Most common worldwide
SCA4	CA/motor and sensory neuropathy ⁴²	39 (19–72) ⁴³	USA, ⁴⁴ Germany ⁴⁵
SCA7	RP/CA ⁴⁶	18–41 (0–70) ^{13 46}	Finland, Mexico, South Africa, UK, Belgium, France, Germany, Japan
SCA8	CA/EP/spasticity ⁴⁷	40 (1–73) ^{47 48}	USA/Finland
SCA10	CA/seizures ⁴⁹	36 (10–49) ^{49 50}	Mexico, Brazil
SCA12	CA/EP ⁵¹	35 (8–55) ^{51 52}	India
SCA13	Variable ¹⁸	Childhood (0–45) ^{18 53}	France, Philippines
SCA14	CA/axial myoclonus/dystonia ¹⁹	34 (5–70) ^{19 54}	UK, France, The Netherlands, USA, Japan, Australia
SCA17	Variable/EP/psychosis ⁴²	33 (3–55) ⁵⁵	Japan, Portugal, USA
SCA18	CA/sensorimotor neuropathy ⁵⁶	15 (12–25) ⁵⁶	USA ⁵⁶
SCA19/22	Variable ⁴²	34 (10–46) ^{22 57 58}	The Netherlands, ⁵⁷ China, ⁵⁸ France ⁵⁹
SCA20	CA/palatal tremor/dysphonia ⁶⁰	47 (19–64) ^{60 61}	Australia
SCA21	CA/cognitive deficits/EP ⁶²	18 (7–30) ⁶²	France ⁶²
SCA23	CA/sensory neuropathy ⁶³	50 (43–56) ⁶³	The Netherlands
SCA25	CA/sensory neuropathy ²⁴	? (1–39) ⁵³	France ⁶⁴
SCA27	CA/cognitive deficits ²⁶	? (15–20) ²⁶	The Netherlands
SCA28	CA/hyper-reflexia ⁶⁵	19 (12–36) ²⁷	Italy, France, UK
SCA29	Congenital non-progressive ataxia ⁶⁶	Congenital ⁶⁶	Canada, ⁶⁷ Australia ⁶⁶
SCA32	CA/cognitive deficits/azoospermia ⁶⁸	Childhood to 60s	US ⁶⁸
SCA35	CA/torticollis ³⁰	44 (40–48) ³⁰	China
SCA36	CA/motor neuron disease ³¹	53 (48–57) ³¹	Spain, Japan
SCA37	CA/impaired vertical eye movements ³⁷	48 (38–64) ³⁷	Spain ³⁷

Clinical phenotypes, average age of onset (if reported in the literature) and predominant geographical distribution.
 CA, cerebellar ataxia; EP, extrapyramidal or Parkinsonian features; RP, retinopathy; SCA, spinocerebellar ataxia.

Tabella 4 SCA: caratteristiche genetiche e neuroradiologiche delle forme miste

SCA	Locus	Neuroradiological findings ¹¹⁷	Gene	Cause
<i>Mixed</i>				
SCA1	6p23	OPCA ³⁸	<i>ATXN1</i>	PolyQ-encoding CAG repeat expansion
SCA2	12q24	OPCA, spinal/cortical atrophy	<i>ATXN2</i>	PolyQ-encoding CAG repeat expansion
SCA3	14q24.3-q31	OPCA, enlarged 4th ventricle	<i>ATXN3</i>	PolyQ-encoding CAG repeat expansion
SCA4	16q22.1	CA		
SCA7	3p21.1-p12	OPCA	<i>ATXN7</i>	PolyQ-encoding CAG repeat expansion
SCA8	13q21	CA	<i>ATXN8, ATXN8os</i>	Non-coding CTG×CAG repeat
SCA10	22q13	CA	<i>ATXN10</i>	Non-coding pentanucleotide repeat
SCA12	5q31-q33	CA+cerebral atrophy	<i>PPP2R2B</i>	Non-coding CAG expansion (5'UTR)
SCA13	19q13.3-q13.4	OPCA	<i>KCNK3</i>	Multiple missense mutations
SCA14	19q13.4	CA (vermis)	<i>PRKCG</i>	Multiple missense mutations
SCA17	6q27	CA±general atrophy	<i>TBP</i>	PolyQ-encoding (CAG or CAA repeat expansion)
SCA18	7q22-q32	CA		
SCA19/22	1p21-q21	CA±cerebral atrophy	<i>KCND3</i>	Multiple missense mutations
SCA20	11p13-q11	CA		
SCA21	7p21.3-p15.1	CA		
SCA23	20p13	OPCA ¹¹⁸	<i>PDYN</i>	Multiple missense mutations
SCA25	2p21-p13	CA		
SCA27	13q34	CA	<i>FGF14</i>	Missense mutation F145S
SCA28	18p11	CA ²⁷	<i>AFG3L2</i>	Multiple point mutations
SCA29	3p26	Cerebellar hypoplasia ⁶⁶		
SCA32	7q32-q33	CA ⁶⁸		
SCA35	20p13	OPCA ³⁰	<i>TGM6</i>	Multiple point mutations
SCA36	20p13	CA ³¹	<i>NOP56</i>	Intronic hexanucleotide repeat expansion
SCA37	1p32	CA ³⁷		

Mapped locus, predominant neuroradiological findings, gene (if known) and mutation type (if known). CA, cerebellar atrophy; OPCA, olivopontocerebellar atrophy; SCA, spinocerebellar ataxia.

Tabella 5 SCA: forme pure

SCA	Phenotype	Age of onset: mean (range)	Predominant geographical distribution ⁵
<i>Pure</i>			
SCA5	Pure CA ⁶⁹	30 (10–68) ^{69 70}	USA, Germany, France
SCA6	Pure CA ⁷¹	43–52 (19–71) ⁷¹	USA, Germany, Australia, Taiwan
SCA11	Pure CA ⁷²	25 (15–43) ^{16 72}	UK, France, Germany
SCA15/16	Pure CA ⁶⁰	31 (7–66) ⁶⁰	UK, France
SCA26	Pure CA ³⁶	42 (26–60) ³⁶	USA ³⁶
SCA30	Pure CA ⁷³	52 (5–76) ⁷³	Australia ⁷³
SCA31	Pure CA ⁴²	52–62 (8–72) ^{29 74}	Japan
SCA34	Pure CA, erythrokeratoderma ⁷⁵	Skin—childhood; ataxia—>40 ⁷⁵	Canada ⁷⁵

Clinical phenotypes, average age of onset (if reported in the literature) and predominant geographical distribution. CA, cerebellar ataxia; SCA, spinocerebellar ataxia.

Tabella 6. SCA: caratteristiche genetiche e neuroradiologiche delle forme pure

SCA	Locus	Neuroradiological findings ¹¹⁷	Gene	Cause
<i>Pure</i>				
SCA5	11q13	CA	<i>SPTBN2</i>	Missense or in-frame deletions
SCA6	19p13	CA	<i>CACNA1A</i>	PolyQ-encoding expansion
SCA11	15q15.2	CA	<i>TTBK2</i>	Various mutations
SCA15/16	3p26-p25	CA (vermis)	<i>ITPR1</i>	Large genomic deletions
SCA26	19p13.3	CA ³⁶	<i>eEF2</i>	Missense mutation P596H
SCA30	4q34.3-q35.1	CA ⁷⁵		
SCA31	16q21	CA	<i>BEAN</i>	Intronic pentanucleotide repeat expansion
SCA34	6q12.3-q16.2			
Mapped locus, predominant neuroradiological findings, gene (if known), and mutation type (if known). CA, cerebellar atrophy; OPCA, olivopontocerebellar atrophy; SCA, spinocerebellar ataxia.				

La prevalenza delle SCA è di circa 4/100.000 con significative variazioni di tipo geografico ed etnico. In Italia le forme più frequenti sono la SCA1 e la SCA2 che riguardano circa il 40% delle famiglie, ma sono state descritte anche casi di SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA15, SCA17, SCA28, SCA38.

L'ataxia spino cerebellare di tipo 1 (SCA1)

L'ataxia spino cerebellare di tipo 1 (SCA 1; OMIM #164400) fa parte di un gruppo di patologie causate dall'espansione di una tripletta instabile CAG che codifica per un tratto poliglutaminico. [30] Questo gruppo di patologie, chiamate malattie poliglutaminiche, include almeno nove disordini neurodegenerativi ereditari: la malattia di Huntington

(HD), l'atrofia muscolare spinale e bulbare (SBMA), l'atrofia dentato-rubro-pallido-luisiana (DRPLA) e sei atassie spino cerebellari autosomiche dominanti (SCA1, 2, 3, 6, 7, and 17). [30,31]

La SCA1 è determinata dall'espansione patologica di una tripletta ripetuta CAG nel gene ATXN1, sul Cromosoma 6 p22-p23, che codifica per l'atassina 1, una proteina ubiquitaria a funzione non del tutto nota. [32] Nella popolazione generale il gene ATXN1 contiene tra 6 e 42 triplette CAG che sono interrotte da 1-4 triplette CAT quando il loro numero è superiore a 20. Nella SCA1 si rileva invece un tratto ininterrotto di triplette CAG che varia da 39 ad 83. C'è una correlazione inversa tra la lunghezza dell'espansione e l'esordio della malattia. Come in tutte le patologie da espansione di triplette, anche nella SCA 1 si osserva il fenomeno dell'anticipazione, cioè l'esordio più precoce ed il fenotipo più grave da una generazione all'altra. Questo è dovuto all'instabilità delle triplette che nel corso della meiosi tendono ad espandersi ulteriormente, specialmente in caso di trasmissione paterna. L'espansione del tratto poliglutaminico altera la conformazione dell'atassina 1 con conseguente formazione di aggregati insolubili che si accumulano a livello nucleare. Sebbene l'espansione del tratto poliglutaminico sia determinante nella patogenesi della SCA1, è necessaria anche la concomitante presenza di modificazioni post-translazionali della proteina mutata, quali la fosforilazione della serina 776, l'ubiquitinazione, la tranzglutaminazione. Queste modificazioni determinano: - la stabilizzazione dell'atassina 1 mutata con conseguente effetto neurotossico (mediante legame con le proteine 14-3-3- e CIC); - l'aumentata resistenza alla degradazione ad opera del proteasoma; - l'inibizione del MEF2 che svolge un ruolo importante nella sopravvivenza neuronale e nella plasticità sinaptica. [32]

La SCA 1 esordisce generalmente nella quarta decade di vita. E' clinicamente caratterizzata da atassia progressiva, disartria, disfagia, decadimento cognitivo con

alterazione delle funzioni esecutive, disturbi dell'oculomozione ed insufficienza respiratoria. [33] Il quadro clinico della SCA 1 è dovuto alla degenerazione delle cellule di Purkinje, dei nuclei dei nervi cranici, dell'oliva inferiore e dei tratti spino cerebellari. La Risonanza Magnetica Cerebrale evidenzia una marcata atrofia del cervelletto e del tronco encefalico. Gli studi autoptici rilevano atrofia dei lobi frontali, temporali e parietali oltre che del cervelletto, dei peduncoli cerebellari, del tronco encefalico e dei nervi cranici III, IV e VI–XII. [34]

1.2 Le metodiche innovative in neuroriabilitazione

1.2.1. Elettrostimolazione Funzionale

L'Elettrostimolazione Funzionale (FES) è una metodica riabilitativa caratterizzata dalla somministrazione di correnti eccitatorie a livello neuromuscolare in associazione ad un task funzionale (es. cammino, pedalata). La combinazione della stimolazione elettrica con un compito motorio finalizzato determina migliori risultati rispetto a quelli che si ottengono con la sola elettrostimolazione, consentendo una riduzione del periodo di trattamento ed una maggiore compliance da parte dei soggetti trattati. [35,36] Per determinare la contrazione dei muscoli ipostenici in sequenze funzionali, utili allo svolgimento di un task motorio complesso, vengono utilizzate delle correnti eccitatorie a livello delle diramazioni nervose della placca motrice e non del muscolo stesso. Infatti, in caso di stimolazione diretta del muscolo, l'intensità di corrente necessaria per determinare la contrazione muscolare dovrebbe essere di intensità e durata troppo elevate per essere utilizzate ripetutamente ed in maniera sicura. Per il corretto utilizzo della FES

è quindi necessario che il muscolo non sia completamente denervato. La corrente eccitatoria viene erogata attraverso elettrodi di superficie autoadesivi posti sulla cute sovrastante i muscoli di cui si vuole determinare l'attivazione, preferibilmente in prossimità del punto motore.

Nel corso di una contrazione fisiologica, secondo il Principio di Henneman, vengono attivate prima le unità motorie più piccole (S), facenti capo a motoneuroni con soma < 300 μm^2 che innervano le fibre di tipo I e poi le unità motorie Fast Fatigue Resistant (FFR) che fanno capo a motoneuroni di medie dimensioni (soma compreso tra 300-700 μm^2) che innervano le fibre di tipo IIa. Solo successivamente ed esclusivamente per contrazioni molto intense, si ha l'attivazione delle unità motorie Fast Fatigable (FF) che fanno capo a motoneuroni di grandi dimensioni (soma >700 μm^2) e che causano la contrazione delle fibre IIb. In corso di FES invece, quando lo stimolo elettrico raggiunge le terminazioni nervose della placca motrice, stimola prima le fibre nervose più esterne e superficiali, deputate alla contrazione delle fibre di tipo IIa e IIb e solo successivamente gli assoni deputati alla contrazione delle fibre muscolari di tipo I. La FES determina quindi un reclutamento delle unità motorie inverso a quanto avviene in condizioni fisiologiche, causando l'attivazione di fibre muscolari generalmente non utilizzate in condizioni fisiologiche. La contrazione volontaria è infatti di tipo asincrono, per cui le fibre muscolari vengono reclutate secondo il principio di Henneman, in base alla forza desiderata. La FES è invece sincrona, cioè una elettrostimolazione provoca la simultanea contrazione di tutte le fibre muscolari. Il processo non fisiologico di contrazione che si verifica in corso di FES può determinare affaticamento del muscolo stimolato. Per questo motivo le sessioni di trattamento sono brevi e vengono utilizzati i parametri di stimolazione più appropriati per ridurre l'instaurarsi di tale evento. [35] E' da sottolineare comunque che nel lungo periodo la FES determina un aumento della vascolarizzazione e

dell'apporto di ossigeno con up-regolazione degli enzimi ossidativi e down-regolazione dell'attività glicolitica, associati ad uno shift verso una tipologia fibrale a contrazione più lenta che conferisce maggiore resistenza alla fatica. Per questi motivi la metodica viene anche utilizzata in pazienti con severa cardiomiopatia dilatativa e nel periodo immediatamente successivo ad interventi di natura cardiovascolare. La FES determina inoltre un aumento della massa muscolare con riduzione dell'atrofia, come dimostrato dall'aumento della cross sectional area delle fibre muscolari. [37]

I meccanismi molecolari alla base di questi effetti clinici sono ancora poco studiati. Molto recentemente Barber et al [38] hanno dimostrato in soggetti sani con sarcopenia da invecchiamento che l'elettrostimolazione determina una up-regolazione dei livelli di IGF1 con aumento dei processi anabolici muscolari e riduzione dei processi catabolici; gli autori hanno rilevato inoltre un'attivazione delle cellule satelliti con incremento dei livelli di miogenina, miR-206 e miR-1 ed un'azione sul miR-29 che può bloccare la fibrosi muscolare.

Dal punto di vista clinico, la FES è stata inizialmente pensata per consentire la deambulazione nei pazienti affetti da lesione midollare. Tuttavia la complessità dell'attivazione muscolare nel corso del cammino, la scarsa velocità ottenibile ed altre difficoltà tecniche, non hanno determinato la diffusione della metodica in questo ambito.

La FES viene attualmente utilizzata per aumentare la massa muscolare, migliorare le prestazioni cardiovascolari, e l'osteoporosi, in molteplici patologie del Sistema Nervoso Centrale, quali ictus cerebrale, sclerosi multipla e lesioni midollari. [39-43] Il suo impiego nelle malattie rare è innovativo e non è mai stata studiato.

La FES può essere utilizzata per determinare la contrazione di un singolo muscolo, quale ad esempio il tibiale anteriore per correggere il foot drop. In altri casi, come nella FES-

cycling, può essere utilizzata per stimolare contemporaneamente più muscoli, permettendo la corretta sequenza di attivazione muscolare necessaria per compiere un task motorio complesso quale la pedalata. L'avanzare delle tecnologie ingegneristiche sta determinando ulteriori evoluzioni della FES. L'attivazione del device potrebbe in futuro anche essere determinata dall'attività mioelettrica residua dei muscoli ipostenici rilevati mediante segnale EMG. E' stato ipotizzato che ciò possa promuovere un meccanismo di motor learning, non osservabile durante l'attivazione passiva del muscolo.

1.2.2 Stimolazione Transcranica a Correnti Continue

La Stimolazione Transcranica a correnti continue (tDCS) è una metodica non invasiva che viene utilizzata per modulare l'eccitabilità neuronale applicando deboli correnti elettriche allo scalpo mediante una coppia di elettrodi di superficie [44]. E' una metodica sicura, ben tollerata, sostanzialmente priva di effetti collaterali, utilizzata recentemente nel trattamento dei disturbi motori e del linguaggio conseguenti ad Ictus cerebrale. [45,46]

La tDCS si avvale dell'utilizzo di uno stimolatore elettrico che fornisce una debole corrente elettrica continua (DC) di intensità pari ad 1-2 mA, connesso ad una coppia di elettrodi di superficie costituiti da una spugna sintetica. L'elettrodo stimolante è posizionato in corrispondenza dell'area cerebrale target; l'elettrodo di riferimento può essere posizionato sullo scalpo (tDCS bicefalica o bipolare) oppure su una parte differente del corpo, generalmente la spalla destra (tDCS monocefalica o monopolare). L'effetto della tDCS si differenzia da quello di altre metodiche di stimolazione cerebrale, quali ad esempio la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS). Mentre la TMS induce sempre una scarica sincrona di potenziali d'azione nei neuroni a riposo sottostanti l'area

stimolata, la tDCS modifica la probabilità di scarica neuronale. Le correnti continue determinano infatti un accumulo di ioni nell'area stimolata modificando la soglia di scarica dei neuroni interessati. Per questo motivo l'intensità dell'effetto dipende dallo stato di attivazione dei neuroni target al momento della stimolazione. La direzione del cambiamento di eccitabilità neuronale dipende da svariati fattori, quali la polarità dell'elettrodo che eroga la corrente diretta, la geometria del campo elettrico, la posizione degli elettrodi stimolanti. Con i montaggi comunemente impiegati, l'eccitabilità neuronale aumenta dopo l'applicazione di una corrente anodica e diminuisce dopo l'applicazione di una corrente catodica. I cambiamenti di eccitabilità determinati da correnti DC si possono rilevare testando l'eccitabilità corticale con la TMS, valutando l'attività elettroencefalografica o magnetoencefalografica, oppure mediante risonanza magnetica funzionale.

I meccanismi fisiopatologici responsabili degli effetti della tDCS sono svariati e differiscono a seconda che si considerino gli effetti a breve termine o a lungo termine. Gli effetti a breve termine, che si verificano in corso di stimolazione, sembrano legati alla modulazione del potenziale di membrana a riposo; gli effetti a lungo termine potrebbero invece essere spiegati con l'induzione di modificazioni dell'efficienza e della plasticità sinaptica (Long term potentiation; long term depression) ed essere prodotte dall'interferenza con i recettori N-metil-D-aspartato (NMDA). Le correnti continue potrebbero inoltre modificare la sintesi proteica, l'afflusso neuronale di calcio, la forma del citoscheletro, l'afflusso di sangue, il livello di ossigenazione ed il pH.

Studi recenti indicano che la tDCS può essere impiegata anche per modulare in modo non invasivo l'eccitabilità del cervelletto [47-49]. Sebbene il cervelletto rappresenti solo il 10% del volume cerebrale, contiene più della metà di tutti i neuroni cerebrali. Questa

elevata concentrazione neuronale può spiegare in parte l'elevata sensibilità del cervelletto per la tDCS. Il cervelletto ha funzioni uniche ed estremamente rilevanti nel controllo motorio, nell'apprendimento, nelle funzioni cognitive e comportamentali. Per questo motivo la tDCS cerebellare offre un'importante opportunità terapeutica sia per patologie primitivamente cerebellari che per altri disordini del movimento e del comportamento. In particolare la modulazione dell'eccitabilità cerebellare può avere un effetto nel modulare la plasticità della corteccia motrice come evidenziato da Galea e collaboratori. [50]

1.2.3 Realtà Virtuale

La Realtà Virtuale (RV) è una tecnologia avanzata utilizzata recentemente in ambito riabilitativo. Consiste in un'interfaccia uomo-computer che permette all'utente di immergersi in un ambiente simile a quello reale con il quale può interagire attraverso molteplici canali sensoriali: visivo, uditivo, tattile, gustativo ed olfattivo. [51-53] In base al diverso grado di immersione dell'utente nell'ambiente virtuale si distinguono due tipi di RV: immersiva e non immersiva. La RV immersiva è in grado di creare un completo senso di assorbimento e di isolamento sensoriale nell'ambiente tridimensionale generato dal computer. Questo alto livello di immersione è possibile grazie all'utilizzo di devices (Head Mounted Display, HMD) che isolano completamente l'utente dall'ambiente esterno reale. La RV non immersiva utilizza invece proiezioni su un monitor in modo che l'utente veda il mondo tridimensionale creato dal computer attraverso una sorta di finestra: in tal modo l'ambiente esterno reale non è completamente eliminato. Un tipo di sistema non immersivo è il Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS) sviluppato al Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA. Il sistema di RV è costituito da

una serie di strumenti in grado di acquisire informazioni sulle azioni del soggetto (strumenti di input) che vengono integrate ed aggiornate in tempo reale dal computer in modo da costituire un mondo tridimensionale dinamico, per essere restituite all'utente attraverso sofisticati strumenti di fruizione dell'informazione (strumenti di output). Il soggetto può effettuare nello scenario virtuale compiti motori che non riesce ad eseguire nel mondo reale. Nello scenario virtuale infatti la complessità del task motorio viene determinata sulle base della capacità residue del paziente e può essere progressivamente aumentata in caso di miglioramento delle performances. Al fine di consentire l'apprendimento motorio del task, al paziente vengono forniti in tempo reale dei feedback che danno indicazioni sulle modalità di svolgimento del movimento e lo informano sulla necessità di correggere gli errori.

2. OBIETTIVI

L'obiettivo generale del presente studio è quello di valutare la sicurezza e l'efficacia della FES nel migliorare le performances motorie nella Distrofia Miotonica di tipo 1(DM1) e nelle Paraparesi Spastiche Ereditarie (HSP).

Sono stati effettuati due studi pilota controllati.

Nel primo studio sono state valutate la sicurezza e l'efficacia della FES-cycling nel migliorare la forza muscolare, la fatica e la velocità del cammino nella Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1).

Scopo del secondo studio è stato quello di determinare la sicurezza e l'efficacia della FES-cycling nel ridurre la spasticità ed incrementare stenia segmentaria, fatica e velocità del passo nelle HSP.

3. PUBBLICAZIONI E CONTRIBUTI SCIENTIFICI

- 1) **Paola Cudia**, Luca Weis,, Alfonc Baba, Pawel Kiper, Andrea Marcante, Simonetta Rossi, Corrado Angelini, Francesco Piccione. *Effecs of Functional Electrical Stimulation lower extremity training I Myotonic Dystrophy type 1: a pilot controlled study*. American Journal Physical Medicine & Rehabilitation. In Press
- 2) Angelini C, Di Leo R, **Cudia P**. *Autonomic regulation in muscular dystrophy*. Front Physiol. 2013 Sep 20;4: 257
- 3) Brugnoli R, Kapetis D, Imbrici P, Pessia M, Canioni E, Colleoni L, de Rosbo NK, Morandi L, **Cudia P**, Gashemi N, Bernasconi P, Desaphy JF, Conte D, Mantegazza R. *A large cohort of myotonia congenita probands: novel mutations and a high-frequency mutation region in exons 4 and 5 of the CLCN1 gene*. J Hum Genet. 2013 Sep; 58(9):581-7.
- 4) **P. Cudia**, A. Lacatena, A. Baba, P.Kiper, E.Tasca, A.Merico, F.Piccione, E. Pegoraro, C.Angelini. *Hereditary Spastic Paraplegia: clinical effects of neurorehabilitation*. European Journal of Translational Myology/Basic Applied Myology 2013; 23:38

4. RISULTATI

4.1 Effetti dell'Elettrostimolazione Funzionale nella DM1. Uno studio pilota controllato

ABSTRACT

Obiettivi

L'elettrostimolazione funzionale (FES) è una nuova metodica riabilitativa che associa la stimolazione elettrica con un task motorio. Lo scopo di questo studio pilota è quello di valutare la sicurezza e l'efficacia della FES nella Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1).

Disegno

Studio pilota controllato nel quale sono stati valutati nel corso di due anni 20 pazienti con DM1. Otto pazienti (età 39-67 anni) hanno rispettato i criteri di inclusione. Quattro partecipanti hanno effettuato un training con FES cycling per 15 giorni (una sessione giornaliera di 30 minuti per 5 giorni alla settimana). Un gruppo di controllo, affine per caratteristiche cliniche e genetiche, con controindicazioni per l'elettrostimolazione, ha effettuato un trattamento riabilitativo convenzionale della durata di sei settimane comprendente attività aerobica ed esercizi di rinforzo. La Scala MRC modificata e le valutazioni funzionali sono state effettuate prima e dopo il trattamento riabilitativo. L'analisi statistica è stata effettuata mediante l'indice d di Cohen .

Risultati

Il trattamento riabilitativo con FES-cycling è stato ben tollerato ed è risultato più efficace del training convenzionale nel migliorare la forza muscolare globale ($d=1,723$), la forza del muscolo tibiale anteriore ($d=1,583$) e la resistenza alla fatica ($d=0,626$) .

Conclusioni

La FES può essere considerata un approccio riabilitativo valido e sicuro per migliorare la funzionalità muscolare, anche in muscoli severamente compromessi per i quali non sono disponibili altri approcci riabilitativi finalizzati al recupero della funzione deficitaria. La conferma dell'efficacia delle FES mediante ulteriori trials clinici è auspicabile.

4.1.1 Introduzione

La Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1) è un disordine multisistemico a trasmissione autosomica dominante causato dall'espansione di una tripletta (CTG) nella regione 3' non-codificante del gene DMPK sul cromosoma 19 q13.3.[53] E' la più frequente distrofia muscolare dell'adulto. La prevalenza è estremamente variabile ed è compresa tra 0.5 e 18.1/100.000, a seconda delle diverse aree geografiche. Le prevalenze più basse si rilevano in Taiwan (0.5) ed in Italia (2.0) mentre quelle più alte in Croazia, con la Gran Bretagna che presenta valori intermedi. [54] Clinicamente si rilevano sia forme severe che lievi o anche asintomatiche. Le principali caratteristiche muscolari sono la miotonia, la fatica, l'ipostenia e l'atrofia muscolare. Nelle fasi iniziali di malattia si rileva un coinvolgimento della muscolatura distale, ma con la progressione clinica, si verifica anche un coinvolgimento prossimale. In un recente studio prospettico condotto nell'arco di 5 anni, si è rilevata una riduzione significativa della forza muscolare in tutti i muscoli della gamba, con maggiore interessamento del muscolo tibiale anteriore nel quale la perdita di forza è pari al 12% mentre negli altri gruppi muscolari si attesta sul 5-8%. [5] Il piede cadente, dovuto alla debolezza dei muscoli dorsiflessori della caviglia è considerato uno dei principali fattori di rischio per l'aumentata frequenza di cadute nei

pazienti con DM, interferendo negativamente con la loro qualità di vita. [6] E' pertanto essenziale limitare la progressiva ipostenia muscolare, al fine di prevenire e limitare l'insorgenza di severi eventi avversi. Attualmente non sono disponibili trattamenti farmacologici efficaci per la DM1. Gli interventi riabilitativi potrebbero invece ottimizzare la funzionalità muscolare e prevenire l'atrofia da disuso ed il decondizionamento nelle persone con malattia muscolare. Tuttavia, solo un numero limitato di studi clinici sono stati condotti sulla riabilitazione nella DM1. La maggior parte ha valutato l'efficacia del training aerobico e degli esercizi di rinforzo. [55-59] Questi ultimi tuttavia possono essere effettuati solamente in caso di ipostenia non severa, quando il muscolo può vincere almeno una debole resistenza. Inoltre, una review sistematica della letteratura sugli effetti della riabilitazione nel piede cadente, ha evidenziato una mancanza di efficacia degli esercizi di rinforzo nel migliorare l'ipostenia del tibiale anteriore nella DM1. [60] Recentemente gli effetti dell'elettrostimolazione neuromuscolare, effettuata con la frequenza di due sessioni giornaliere di 60 minuti ciascuna, è stata valutata in 4 pazienti con DM1 che hanno mostrato un miglioramento della lieve ipostenia del muscolo tibiale anteriore (MRC 4). [61] Ad oggi, gli approcci riabilitativi mirati al recupero della funzione muscolare non sono disponibili per quei pazienti più severamente compromessi e perciò a maggior rischio di eventi avversi. Recentemente, alcuni studi hanno evidenziato l'importante ruolo dell'elettrostimolazione funzionale (FES) in molteplici patologie neurologiche con severa debolezza muscolare. [39-41] La FES associa l'elettrostimolazione con un task funzionale quali ad esempio pedalare o camminare. Questa associazione determina migliori risultati di quelli che si osservano con la sola elettrostimolazione. Per questo motivo, la durata di ogni sessione è più breve, determinando una migliore compliance e motivazione dei pazienti nei confronti del trattamento riabilitativo. [35] La FES potrebbe pertanto determinare risultati

efficaci nei pazienti con DM1 che presentano una debolezza muscolare severa, le cui opzioni terapeutiche consistono nell'utilizzo di ortesi anca-piede. Finora non sono stati condotti studi sull'efficacia della FES nella DM1.

Scopo del presente studio è quello di valutare la sicurezza e gli effetti della FES-cycling sulla forza muscolare, la fatica e la velocità del cammino nei pazienti con DM1.

4.1.2 Pazienti e Metodi

Pazienti

I pazienti con una diagnosi geneticamente confermata di DM1 sono stati valutati nell'ambulatorio di Malattie Neuromuscolari dell'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo tra gennaio 2013 e febbraio 2015. I pazienti che hanno rispettato i criteri di inclusione sono stati ricoverati per effettuare trattamento neuroriabilitativo. Criteri di inclusione: 1) età >18 anni; 2) Scala MIRS >2; presenza di ipostenia di grado moderato-severo a carico del muscolo tibiale anteriore (MRC<4); 4) capacità di camminare. Oltre al training per gli arti inferiori, tutti i partecipanti hanno effettuato terapia occupazionale, training per migliorare la manualità fine, trattamento logopedico per disartria e valutazione per la disfagia. Per questo motivo, il protocollo riabilitativo, che potrebbe essere effettuato ambulatorialmente, è stato condotto in regime di ricovero. Lo studio è stato effettuato secondo gli standard etici della Dichiarazione di Helsinki. La ricerca e l'utilizzo dei dati dei pazienti a scopo di ricerca è stato approvato dal comitato etico locale.

I partecipanti sono stati assegnati al programma riabilitativo (Gruppo FES o gruppo rinforzo e aerobica) sulla base di criteri clinici. I pazienti con intolleranza o controindicazioni all'elettrostimolazione (pacemaker, neoplasie, epilessia, recenti

emergenze mediche) non hanno effettuato il trattamento con FES e sono stati inclusi nel gruppo di controllo.

Protocollo riabilitativo

FES cycling. Il trattamento riabilitativo con FES cycling è stato effettuato nel corso di un ricovero presso l'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo di Venezia. I partecipanti allo studio hanno eseguito una sessione giornaliera di FES cycling della durata di 30 minuti, 5 giorni alla settimana, per un totale di 15 giorni. La singola sessione è stata caratterizzata da 5 minuti di pedalata assistita, 20 minuti di pedalata attiva attraverso elettrostimolazione e 5 minuti finali di pedalata assistita. I parametri di stimolazione utilizzati sono stati i seguenti: durata del singolo impulso 50-100 μ sec, frequenza 20-30 Hz, intensità di corrente minima per determinare la contrazione muscolare. Per il trattamento è stato utilizzato un elettrostimolatore RehaMove2® (Hasomed®GmbH, Germany) associato ad un leg-trainer (MOTOmed® viva2). L'elettrostimolatore impiegato permette di utilizzare contemporaneamente fino ad 8 canali con tecnica bipolare, erogando stimoli caratterizzati da una forma d'onda rettangolare bifasica bilanciata, durata d'impulso regolabile tra 10 e 50 Hz, con un'intensità di corrente massima di 130 mA per canale. Mediante l'utilizzo di questa apparecchiatura è stato possibile agire contemporaneamente su quattro gruppi muscolari per arto. Nei partecipanti allo studio sono stati stimolati prossimalmente i muscoli quadricipite femorale e gli ischio-crurali e distalmente i muscoli tibiale anteriore e gastrocnemio. Durante il trattamento il macchinario MOTOmed è stato in grado di cadenzare l'accensione dei diversi canali coordinandola con le diverse fasi di pedalata permettendo la corretta sequenza di attivazione muscolare necessaria per compiere la pedalata. Per i gruppi muscolari prossimali sono stati utilizzati elettrodi autoadesivi di cm 10x5, con elettrodo negativo posto al terzo prossimale del muscolo ed elettrodo positivo posto al

terzo distale. Per i muscoli distali sono stati utilizzati elettrodi autoadesivi di cm 5x5, con elettrodo prossimale negativo posto sul ventre muscolare ed elettrodo distale positivo posto a livello della giunzione miotendinea.

Esercizi di rinforzo. I partecipanti allo studio hanno eseguito una sessione giornaliera di esercizi di rinforzo isometrico submassimale della durata di 30 minuti/die, 5 giorni alla settimana, per sei settimane. Il training è stato effettuato con bande elastiche a livello dei muscoli quadricipite, ischiocrurali, tibiale anteriore e gastrocnemio bilateralmente. I pazienti hanno eseguito inizialmente due serie da 10 ripetizioni al 60% di una ripetizione massima; nelle ultime tre settimane l'intensità è stata incrementata a due serie di 5 ripetizioni all'80% di una ripetizione massima.

Training aerobico. Il training aerobico è stato effettuato con un cicloergometro per tutta la durata degli esercizi di rinforzo. E' stato eseguito per 30 minuti/die con una velocità al 60% della frequenza cardiaca massimale. La frequenza cardiaca massimale è stata calcolata con la formula 220 meno l'età della persona in anni. La frequenza cardiaca in corso di training è stata misurata con un cardiofrequenzimetro portatile.

Valutazione Clinica

La severità della DM1 è stata valutata da un medico esperto in malattie muscolari in base alla scala MIRS. [62] La MIRS è una scala ordinale con 5 gradi come segue: 1- nessun coinvolgimento muscolare; 2- segni minimi come miotonia, debolezza della muscolatura facciale, atrofia temporale, ptosi ed ipostenia dei muscoli flessori del collo; 3- ipostenia distale, in assenza di debolezza prossimale fatta eccezione per i muscolo tricipite brachiale; 4- ipostenia prossimale lieve-moderata; 5- debolezza prossimale severa. La forza muscolare è stata valutata a livello dei muscoli flessori ed estensori del ginocchio e della caviglia mediante scala MRC. La scala MRC ha sei gradi (0-5) seguiti da \pm per i

valori intermedi (1+,2-,2+,3-,3+,4-,4+,5-). Al fine di avere una scala interamente numerica è stato aggiunto 0,33 al “ + ” e tolto 0,33 al “ - ” . I partecipanti hanno inoltre effettuato il Six-Minutes Walking Test (6MWT) ed il Test del tempo di percorrenza dei 10 m (10mWT) per valutare rispettivamente la resistenza alla fatica e la velocità del cammino.[63,64] Il 6MWT ha una buona riproducibilità test-retest ed è stato validato come indicatore della resistenza alla fatica anche nei pazienti con malattie neuromuscolari. In accordo con la letteratura scientifica, un miglioramento della distanza percorsa in sei minuti maggiore di 33 metri o del 6% è stato considerato indicativo di una reale efficacia clinica e non espressione di variabilità test-retest. Le valutazioni sono state effettuate alla baseline (Tempo 0) ed alla fine del trattamento (Follow-up).

Sicurezza

Nel corso dello studio i pazienti sono stati quotidianamente sotto controllo di un medico al quale dovevano riferire ogni evento avverso o fastidio soggettivo. I partecipanti erano liberi di interrompere il programma riabilitativo in qualsiasi momento senza alcuna ripercussione sul loro trattamento medico.

RMN muscolare

La RMN muscolare è stata effettuata utilizzando uno scanner 1.5-T (1.5T Philips Achieva). Le sequenze T1 pesate sono state acquisite utilizzando i seguenti parametri: field of view = 220x220mm ; voxel= 0.84x1.31x5mm,; slices=40; slice thickness = 5 mm; reconstruction matrix= 528x528 voxels. Sono state acquisite bilateralmente immagini degli arti inferiori, al fine di valutare il muscolo tibiale anteriore. Sono state ottenute immagini assiali e coronali. Le aree di iperintensità di segnale nelle sequenze T1-pesate sono state interpretate come aree di infiltrazione adiposa. Le immagini sono state valutate da due esperti in RMN muscolare. Il grado di infiltrazione adiposa è stato valutato nelle

sequenze T1 pesate utilizzando la scala pubblicata da Mercuri et al [65] come segue: stadio 0: normale; stadio 2: piccole aree sparse di aumentata intensità; stadio 2a: numerose aree di aumentata intensità, che interessano meno del 30% del volume del muscolo; stadio 2b: numerose aree di aumentata intensità, con precoce confluenza, che interessano dal 30% al 60% del volume del muscolo; stadio 3: aree confluenti di aumentata intensità con il muscolo ancora presente alla periferia; stadio: 4 muscolo completamente sostituito da aree di aumentata intensità.

Analisi Statistica

Per ovviare ai limiti di numerosità del campione, le caratteristiche cliniche dei pazienti sono state confrontate alla baseline mediante test non parametrici. In particolare sono stati utilizzati il Test U di Mann-Whitney per le variabili continue, il test di Fisher per le variabili categoriche ed il test Chi quadrato per le variabili dicotomiche. Sono stati considerati significativi valori di $p \leq 0.05$. Per evitare bias di distribuzione e perdita di significatività statistica dovuta alla numerosità campionaria, la dimensione dell'effetto del trattamento, espresso come variazione del punteggio (follow-up meno baseline) per ogni paziente in ogni trattamento, è stata valutata con l'indice d di Cohen. [66] L'indice d misura l'effetto del trattamento in tre livelli: piccolo, medio e grande. Questi livelli corrispondono a valori di d maggiori o uguali a 0.2, 0.5, and 0.8 rispettivamente. L'indice d può essere anche interpretato in termini di percentuale di discordanza tra le variazioni di punteggio dei due gruppi. Un indice d pari a 0.0 indica che la distribuzione dei punteggi dei due gruppi è la stessa. Un indice d pari a 0.8 indica una discordanza del 47.4% nelle due distribuzioni dei punteggi.

4.1.3 Risultati

4.1.3 Risultati

Pazienti

Venti pazienti con DM1 sono stati valutati presso l'ambulatorio per le malattie neuromuscolari dell'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo nel corso di due anni. Dodici pazienti non hanno rispettato i criteri di inclusione per età (n=4), MIRS (n=4) ed ipostenia del muscolo tibiale anteriore (n=4). Otto pazienti (7 maschi ed una femmina, età media 50±11.38 anni) sono stati arruolati nello studio. Le caratteristiche cliniche dei partecipanti sono riportate nella Tabella 1.

Table 1. Demographic characteristics at baseline.

	FES-cycling Training			Resistance-Aerobic Training			<i>P value</i> *
	Mean	(SD)	Min-max	Mean	(SD)	Min-max	
Age (years)	53.00	(13.98)	40-67	48.75	(10.69)	39-58	0.343
Disease Duration (years)	17.75	(14.97)	2-38	23	(8.29)	16-35	0.486
Disease Onset (years)	35.25	(14.06)	23-53	25.75	(8.38)	19-38	0.200
MRC Quadriceps	5.00	(0.00)	5.00-5.00	4.83	(0.34)	4.33-5.00	0.686
MRC Hamstrings	4.42	(0.69)	3.67-5.00	3.67	(0.47)	3.00-4.00	0.200
MRC Tibialis Anterior	2.67	(0.54)	2.00-3.33	3.00	(0.98)	1.67-4.00	0.486
MRC Gastrocnemius	4.33	(0.82)	3.33-5.00	4.50	(0.58)	4.00-5.00	0.886
Mean MRC	4.11	(0.38)	3.67-4.44	4.00	(0.46)	3.50-4.50	0.886
	n	(%)		n	%		
Sex, male	4	100		3	75		0.999
MIRS 3/ MIRS 4	2/2	50/50		4/0	100/0		0.430
CTG Expansion Class (E1/E1-E2/E2-E3)	0/1/3/0	0/25/75/0		0/1/2/1	0/25/50/25		0.361
Pacemaker	0	0		2	50		–
Cancer ^o	0	0		1	25		–
Acute Medical Conditions #	0	0		1	25		–

Group's clinical and demographical variables were compared with Mann Whitney U test or Chi Square or Fisher Test. A significant level was established at $p \leq 0.05$. # Recent surgery for orbito-zygomatic fracture caused by accidental fall. ^oOvarian Cancer.

Quattro partecipanti hanno effettuato training con FES cycling. Gli altri, omogenei per età, severità di malattia e variabili genetiche (Tabella 1), che presentavano controindicazioni per l'elettrostimolazione, sono stati inclusi in un gruppo di controllo che ha eseguito esercizi di rinforzo e training aerobico. La frequenza cardiaca media è stata di 71 bpm per i partecipanti del gruppo FES e 70 bpm per i controlli. Nel corso di trattamento con FES cycling non abbiamo osservato alcun incremento della frequenza cardiaca. Quest'ultima non ha superato i 110 bpm nel corso del training aerobico. Come riportato nella Tabella 1, il muscolo tibiale anteriore è risultato essere quello più severamente compromesso in tutti i partecipanti (punteggio MRC medio 2.67 ± 0.54 per i pazienti che hanno effettuato la FES e 3.00 ± 0.98 per i controlli), in linea con i dati della letteratura.

Sicurezza

Tutti i partecipanti hanno completato il programma riabilitativo. Il trattamento con FES cycling è stato ben tollerato e nessuno dei partecipanti ha riportato effetti collaterali (eruzioni cutanee, dolore, fatica)

Trattamento

La tabella 2 riporta i valori delle misure di outcome considerate alla baseline ed al follow-up.

Table 2. Functional assessments and muscle strength at baseline and after treatment.

Outcome measures	Patients							
	Participant 1		Participant 2		Participant 3		Participant 4	
	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up
<i>FES Group</i>	MRC Quadriceps (R/L)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	MRC Hamstrings (R/L)	5/5	5/5	4/4	4+/4+	5/5	5/5	4-/4-
	MRC Tibialis Anterior (R/L)	3-/3-	3/3	3+/3+	4/4	3-/3-	3+/3+	2/2
	MRC Gastrocnemius (R/L)	5/5	5/5	3+/4	4+/4+	5/5	5/5	4/4
	6MWT (meters)	487	535	190	290	425	490	290
	10MWT (seconds)	7	6	14	11	6	7	11
<i>Resistance Aerobic group</i>	MRC Quadriceps (R/L)	5/5	5/5	5/5	5/5	4+/4+	4+/4+	5/5
	MRC Hamstrings (R/L)	3/3	3/3	4+/4	5/4	4/4	4/4	4-/4-
	MRC Tibialis Anterior (R/L)	3/3	3/3	3+/4	3+/4	2-/2-	2-/2-	3+/3+
	MRC Gastrocnemius (R/L)	4/4	4/4	5/5	5/5	4/4	4/4	5/5
	6MWT (meters)	275	285	500	575	92	125	273
	10MWT (seconds)	14	9	8	6	32	26	6,5

Gruppo FES

Tutti i partecipanti (4 maschi, età media 53 ± 13.98) hanno mostrato, al termine delle tre settimane di trattamento un miglioramento della forza muscolare globale, come evidenziato dall'aumento del punteggio alla scala MRC da 4.11 ± 0.38 a 4.34 ± 0.78 . In particolare, per il muscolo tibiale anteriore, il punteggio medio alla scala MRC si è modificato da 2.67 ± 0.54 a 3.25 ± 0.32 con un incremento percentuale medio del 23%. La distanza percorsa in sei minuti è variata da 348 ± 133.66 a 406.75 ± 123.81 mt con un aumento percentuale medio del 21%. E' stata osservata anche una riduzione del tempo necessario per percorrere 10 metri, che è passato da 9.5 ± 3.69 a 8.5 ± 2.38 sec (variazione percentuale -7%).

Gruppo rinforzo e aerobica

L'attività aerobica e gli esercizi di rinforzo isometrico sono stati effettuati da quattro partecipanti (3 maschi ed una femmina, età media $48,75 \pm 10,69$). Dopo sei settimane di training il punteggio globale MRC è aumentato da 4.00 ± 0.46 a 4.07 ± 0.92 . Il punteggio medio della scala MRC per il muscolo tibiale anteriore è passato da 3.0 ± 0.98 a 3.08 ± 0.97 con un aumento percentuale del 5%. La distanza media percorsa al 6MWT è passata da 285 ± 167 to 325 ± 186 mt con un incremento percentuale medio del 17%. Il tempo necessario per percorrere 10 mt si è ridotto passando da 15.12 ± 11.70 to 11.86 ± 9.51 sec (variazione percentuale -20%).

Confronto fra gruppi

La Tabella 3 mostra i risultati dell'analisi statistica condotta fra i due gruppi.

Table 3. Treatment effect comparison between FES cycling training and conventional training.

	FES-cycling Training			Resistance-Aerobic Training			P value [†]
	Mean	(SD)	Min-max	Mean	(SD)	Min-max	
Age	53	13.98	40-67	48,75	10,69	39-58	0.343
Disease Duration	17.75	14.97	2-38	23	8,29	16-35	0.486
Disease Onset	35.25	14.06	23-53	25.75	8,38	19-38	0.200
MRC Quadriceps	5.00	(0.00)	5.00-5.00	4.83	0,34	4.33-5.00	0.686
MRC Hamstrings	4.42	0,69	3.67-5.00	3.67	0,47	3.00-4.00	0.200
MRC Tibialis Anterior	2.67	0.54	2.00-3.33	3.00	0,98	1.67-4.00	0.486
MRC Gastrocnemius	4.33	0.82	3.33-5.00	4.50	0,58	4.00-5.00	0.886
Mean MRC	4.11	0.38	3.67-4.44	4.00	0,46	3.50-4.50	0.886
	n	(%)		n	%		
Sex, male	4	100		3	75		0.999
MIRS 3/ MIRS 4	2/2	50/50		4/0	100/0		0.430
CTG Expansion E2/E2-E3)	0/1/3/0	0/25/75/0		0/1/2/1	0/25/50/25		0.361
Pacemaker	0	0		2	50		-
Cancer	0	0		1	25		-
Acute Medical Condition	0	0		1	25		-

Note. Score change: follow-up minus baseline score; MRC: Medical Research Council; 6MWT: six minutes walking Test; 10MWT: Timed 10-meter walk Test; L: left; R: right.

Treatment effect is considered moderately or largely different when Cohen's *d* effect size values are greater than or equal to 0.5 and 0.8 respectively.

Sebbene entrambi i trattamenti abbiano mostrato un effetto positivo, è stata riscontrata una differenza nel grado di miglioramento dell'ipostenia muscolare e delle performances funzionali. Come dimostrato dall'elevato indice d di Cohen, il trattamento con FES ha avuto un effetto maggiore nel migliorare la forza muscolare globale ($d=0.723$ a dx, $d=1.151$ a sx) e la forza del muscolo tibiale anteriore ($d=1.538$). Quest'ultimo dato indica una differenza del 62% fra le due distribuzioni. La FES ha avuto un effetto moderatamente maggiore nel migliorare la distanza percorsa in sei minuti rispetto al trattamento aerobico associato al rinforzo ($d=0.626$). Tuttavia il training convenzionale ha dato risultati migliori nel ridurre il tempo di percorrenza dei 10 metri ($d=1,002$).

RMN muscolare

La RMN muscolare è stata effettuata a tutti i partecipanti prima e dopo il training, ad eccezione di coloro che avevano controindicazioni, quali la presenza di pacemaker ($n=2$) o claustrofobia ($n=2$). Una partecipante non ha effettuato la RMN alla fine del training perché ha eseguito anche una RMN encefalo con gadolinio per valutare un meningioma del planum sfenoidale. La Fig. 1 mostra le immagini assiali T1-pesate della gamba destra dei partecipanti 1,2,4, acquisite alla baseline e dopo 3 settimane di FES cycling. Nelle sequenze T1-pesate, il muscolo tibiale anteriore presentava, prima del training, multiple aree di aumentata intensità, espressione di degenerazione adiposa di stadio 2b nei partecipanti 1-3 e di stadio 3 nel paziente 4, in base scala di Mercuri. Nei pazienti considerati, il grado di compromissione muscolare, valutato con la scala qualitativa, non ha mostrato variazioni dopo tre settimane di trattamento.

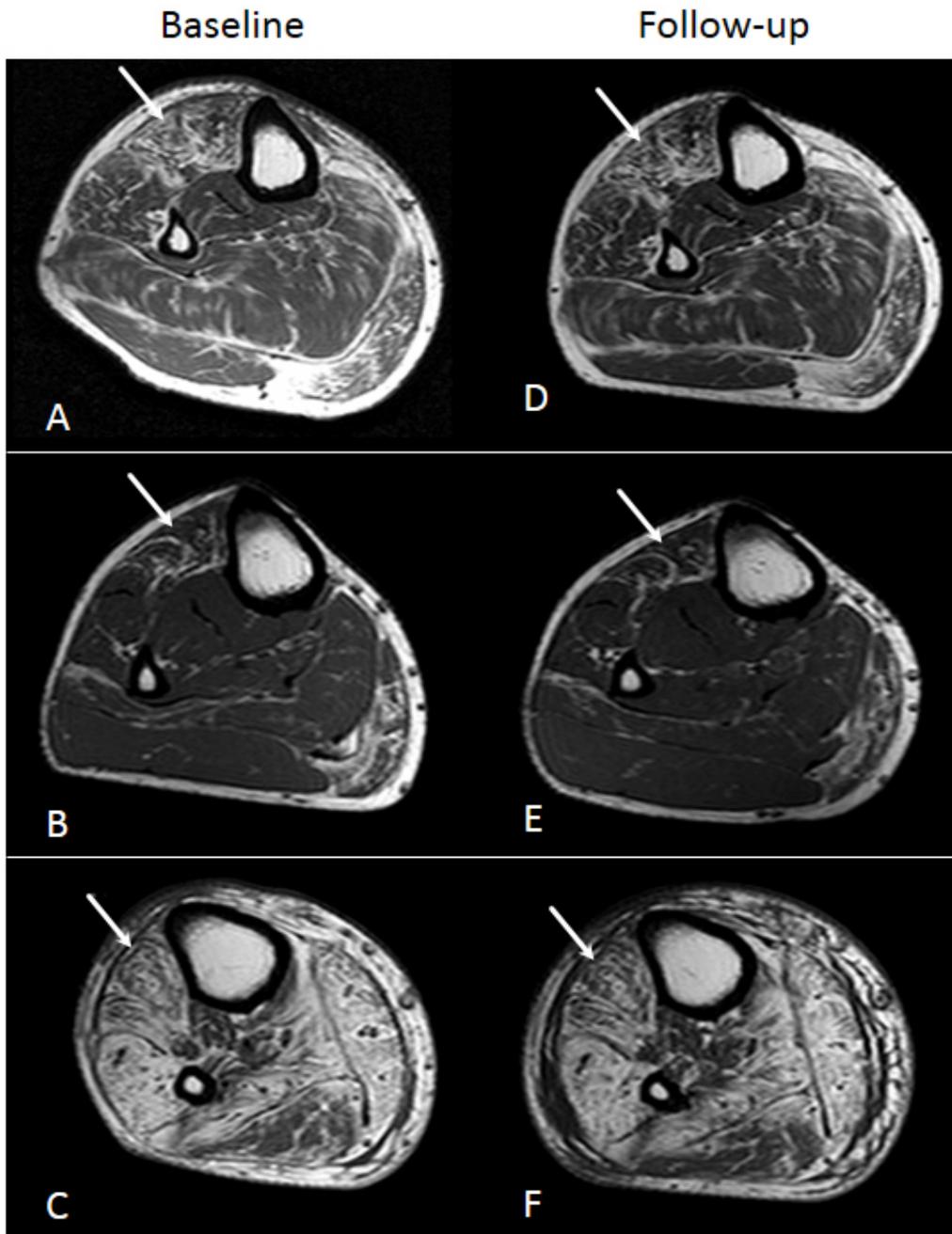


Figure 1. T1-weighted axial images of the right leg of participants 1 (A-D), 3 (B-E) and 4 (C-F) at baseline and follow-up. The six points qualitative scale does not detect any significant change occurring in the tibialis anterior muscle (white arrow) after three weeks of FES induced lower extremity training.

4.1.4 Discussione

Questo studio pilota ha dimostrato che la FES cycling risulta più efficace del trattamento convenzionale nel migliorare la forza muscolare e la resistenza alla fatica. La FES ha mostrato quantomeno effetti positivi simili al training convenzionale in tutte le misure di outcome considerate, ma con una riduzione del periodo di trattamento (30 minuti, 5 giorni alla settimana per 15 giorni, versus 60 minuti giornalieri per 30 giorni). Questo può migliorare la compliance dei pazienti, uno dei cui sintomi principali è la fatica che limita l'effettuazione delle comuni attività quotidiane e l'aderenza al training riabilitativo. In particolare i due trattamenti hanno una discordanza del 62% nel migliorare la forza del muscolo tibiale anteriore a favore della FES. Questi dati confermano i risultati di una recente meta-analisi che evidenzia la mancanza di efficacia degli esercizi di rinforzo nel migliorare la forza del muscolo tibiale anteriore nella DM1.[60] I nostri risultati suggeriscono inoltre che questo nuovo approccio riabilitativo può limitare e migliorare la funzione di muscoli severamente compromessi per cui non sono disponibili altre opzioni terapeutiche. Questo è particolarmente importante per i pazienti affetti da forme severe di DM1 perché in questo modo possono mantenere una buona funzionalità muscolare per un periodo più lungo riducendo il rischio di seri eventi avversi. Nel gruppo FES cycling abbiamo osservato inoltre un aumento percentuale medio del 21% nella distanza percorsa in sei minuti, un valore superiore al 6%, il limite sotto il quale una variazione è considerata espressione di una variabilità test-retest. Questi dati suggeriscono una reale efficacia del training nel migliorare la resistenza. Il 6MWT è considerato un indicatore di resistenza alla fatica e di capacità aerobica, l'abilità del muscolo di sostenere sforzi di bassa intensità per lunghi periodi di tempo.[67] Un simile miglioramento della capacità aerobica indotto dalla FES è stato

riscontrato in persone con paraplegia conseguente a lesione midollare ed in persone con scompenso cardiaco severo.[42,43] L'effetto della FES sul 6MWT senza variazioni significative al 10MWT può suggerire un effetto predominante di questa metodica sulle fibre del tipo I che sono selettivamente atrofiche nella DM1. Il muscolo scheletrico è composto da differenti tipi di fibre, caratterizzate da differenti proprietà funzionali e strutturali. La loro classificazione è basata sulla diversa velocità di contrazione e sul tipo di metabolismo per cui le fibre si suddividono in due tipologie. [68] Le fibre a contrazione lenta (tipo I; slow-twitch) sono specializzate per un'attività continua ed un fenotipo resistente alla fatica; presentano un elevato contenuto di mitocondri e hanno un metabolismo ossidativo. Questo tipo di fibre è selettivamente coinvolto nella DM1. Le biopsie muscolari sono infatti caratterizzate da atrofia delle fibre del tipo I. [69] Questo aspetto istopatologico può essere ulteriormente accentuato dall'inattività, che è comune nelle persone con DM1 e compromissione muscolare severa. Le fibre a contrazione rapida (di tipo II; fast-twitch) hanno un'elevata affaticabilità, maggiore forza di contrazione, minore capacità ossidativa, minor contenuto mitocondriale; mostrano un prevalente utilizzo del glucosio per la produzione di ATP attraverso la glicolisi anaerobica [70] ed appaiono essere relativamente non coinvolte nelle biopsie dei pazienti con DM1. Per migliorare la propria funzione, il muscolo scheletrico adatta le sue proprietà metaboliche e contrattili in risposta a vari stimoli esterni (plasticità muscolare). L'inattività ad esempio, causa una transizione da slow a fast-twitch, con conseguente shift metabolico muscolare da ossidativo a glicolitico, accompagnato da una preferente atrofia delle fibre del tipo I. Un recente studio, condotto su soggetti sani, ha dimostrato che l'elettrostimolazione determina uno shift verso un fenotipo fibrale slow-tipo I con conseguente up-regolazione degli enzimi ossidativi e down-regolazione della via glicolitica.[71] La transizione indotta dalla FES verso un fenotipo slow può

essere estremamente utile nella DM1, specialmente se si considerano le caratteristiche istopatologiche della malattia. Ulteriori indagini sono necessarie per valutare se la FES possa modificare queste alterazioni istopatologiche. I meccanismi attraverso i quali la FES agisce sul muscolo nella DM1 non sono stati chiariti dalla RMN qualitativa. Non abbiamo infatti potuto rilevare cambiamenti significativi dell'infiltrazione adiposa con la scala qualitativa di Mercuri. Questa fornisce un'indicazione immediata della presenza o assenza di infiltrazione adiposa ed è utile nel monitorare la storia naturale della malattia nel lungo periodo di tempo. Tuttavia, ogni grado qualitativo corrisponde ad un range di frazione adiposa molto ampio, e rilevare variazioni che si verificano nel corso di poche settimane è difficile utilizzando questo sistema. Questo studio conferma pertanto le evidenze emergenti sulla necessità di utilizzare metodiche di RMN quantitativa. Le metodiche quantitative secondo Dixon, che solo di recente hanno iniziato ad essere utilizzate, potrebbero invece permettere di discriminare piccole variazioni del volume muscolare e dell'infiltrazione adiposa che avvengono nel corso di poche settimane e potrebbero fornire indicazioni non invasive sulle modalità mediante le quali la FES agisce sul muscolo. [72,73] Nei nostri pazienti la FES è stata ben tollerata e non abbiamo osservato eventi avversi. Benchè il trattamento sia stato eseguito in regime di ricovero, può essere facilmente condotto anche ambulatorialmente. Il protocollo riabilitativo ha inoltre il vantaggio di non essere controindicato nelle persone con scompenso cardiaco severo. [43] Infatti un recente studio ha mostrato che la FES esercita un effetto benefico sullo status clinico e neuro-ormonale dei pazienti con cardiomiopatia dilatativa ischemica o idiopatica, associata ad una frazione di eiezione inferiore al 35%. Questo è particolarmente importante per i pazienti con DM1 che hanno un rischio elevato di sviluppare cardiomiopatie e aritmie. Recentemente è stato inoltre dimostrato che l'elettrostimolazione può essere usata con

sicurezza subito dopo interventi cardiocirurgici senza il rischio di indurre tachiaritmie, aritmie mortali o disfunzioni del pacemaker. [74] Nonostante questo rilievo, nel nostro studio la FES non è stata utilizzata dai partecipanti con pacemaker, al fine di evitare ogni possibile interferenza con il device cardiaco.

Dobbiamo sottolineare che abbiamo esaminato un piccolo gruppo di pazienti. Questo è dovuto alla rarità ed alla grande eterogeneità clinica della DM1. Abbiamo considerato solo pazienti con debolezza del muscolo tibiale anteriore di grado moderato-severo e per questa ragione molti pazienti sono stati esclusi essendo lievemente affetti o asintomatici. In considerazione del ridotto numero di partecipanti, l'analisi statistica è stata effettuata con l'indice d di Cohen, un parametro indipendente dalla numerosità campionaria. Altre limitazioni di questo studio pilota sono il fatto che non sia stato condotto in cieco e che la RMN muscolare non sia stata effettuata nel gruppo di controllo. Nuovi trials clinici condotti in cieco e con RMN muscolare quantitativa potrebbero essere condotti sulla base di questi dati. In conclusione questo studio pilota suggerisce che la FES può essere considerata uno strumento valido e sicuro per migliorare la funzionalità muscolare, anche nei muscoli più severamente compromessi, per i quali non sono disponibili altre opzioni terapeutiche. Sottolinea inoltre la necessità di eseguire ulteriori trials clinici sull'efficacia e sull'effetto a lungo termine di questo nuovo approccio riabilitativo.

4.2 La FES-cycling nelle Paraparesi Spastiche Ereditarie: effetti sulla spasticità e sull'ipostenia muscolare. Uno studio pilota controllato.

4.2.1 Introduzione

Le Paraparesi Spastiche Ereditarie (HSP) sono un gruppo di patologie neuromuscolari ereditarie causate dalla degenerazione della porzione distale del tratto cortico-spinale e caratterizzate da ipostenia e spasticità agli arti inferiori. [20,21] La spasticità interessa tutti i distretti muscolari, ma è particolarmente rilevante a carico dei muscoli flessori plantari del piede. Ciò comporta una limitazione dell'estensione del piede con tendenza a camminare sulle punte. Attualmente il trattamento delle HSP è solo sintomatico. Per ridurre la spasticità possono essere di qualche beneficio il baclofen orale o intratecale e la tossina botulinica che però non ne determinano una completa remissione. Dal punto di vista riabilitativo lo stretching riveste ruolo essenziale nel prevenire l'instaurarsi di contratture. Tuttavia quando la spasticità è di grado elevato ed è presente una severa limitazione dell'escursione articolare, anche la sua efficacia appare limitata. E' pertanto necessario individuare metodiche innovative che possano contrastare l'aumento del tono muscolare e le sue complicanze, quali l'insorgenza di contratture irreversibili e di retrazioni tendinee.

L'Elettrostimolazione Funzionale (FES) è una metodica riabilitativa utilizzata in patologie con grave impairment motorio. E' caratterizzata dall'associazione della stimolazione elettrica con un task funzionale (camminata; pedalata). [35,37] Alcuni lavori condotti su pazienti con ictus cerebrale e con lesione midollare suggeriscono il possibile

ruolo della FES nel ridurre la spasticità. [75,76] Si ipotizza che il processo alla base del miglioramento del tono muscolare sia riconducibile ad un meccanismo inibitorio del riflesso H. [77,78,79]

Scopo del presente studio pilota controllato è quello di valutare la sicurezza e l'efficacia della FES cycling nel ridurre la spasticità e migliorare la forza muscolare, la fatica e la velocità del cammino nelle HSP.

4.2.2 Pazienti e metodi

Otto pazienti con diagnosi geneticamente e/o clinicamente determinata di HSP sono stati ricoverati presso l'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo di Venezia per effettuare trattamento riabilitativo intensivo. Dopo aver firmato il consenso informato i pazienti sono stati distribuiti in due gruppi di trattamento: 1) FES cycling; 2) Trattamento riabilitativo convenzionale. I criteri di inclusione sono stati i seguenti: diagnosi clinica e/o genetica di Paraparesi Spastica Ereditaria; età >18 anni; capacità di deambulare. Lo studio è stato effettuato secondo gli standard etici della Dichiarazione di Helsinki

Protocollo Riabilitativo

FES cycling. Il trattamento riabilitativo con FES cycling è stato effettuato nel corso di un ricovero presso l'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo di Venezia. I partecipanti allo studio hanno eseguito una sessione giornaliera di FES cycling della durata di 30 minuti, 5 giorni alla settimana, per un totale di 15 giorni. La singola sessione è stata caratterizzata da 5 minuti di pedalata assistita, 20 minuti di pedalata attiva attraverso elettrostimolazione e 5 minuti finali di pedalata assistita. I parametri di stimolazione utilizzati sono stati i seguenti: durata del singolo impulso 50-100 μ sec, frequenza 20-30

Hz, intensità di corrente minima per determinare la contrazione muscolare. Per il trattamento è stato utilizzato un elettrostimolatore RehaMove2® (Hasomed®GmbH, Germany) associato ad un leg-trainer (MOTOmed® viva2). L'elettrostimolatore impiegato permette di utilizzare contemporaneamente fino ad 8 canali con tecnica bipolare, erogando stimoli caratterizzati da una forma d'onda rettangolare bifasica bilanciata, durata d'impulso regolabile tra 10 e 50 Hz, con un'intensità di corrente massima di 130 mA per canale. Mediante l'utilizzo di questa apparecchiatura è stato possibile agire contemporaneamente su quattro gruppi muscolari per arto. Nei partecipanti allo studio sono stati stimolati prossimalmente i muscoli quadricipite femorale e gli ischio-crurali e distalmente i muscoli tibiale anteriore e gastrocnemio. Durante il trattamento il macchinario MOTOmed è stato in grado di cadenzare l'accensione dei diversi canali coordinandola con le diverse fasi di pedalata permettendo la corretta sequenza di attivazione muscolare necessaria per compiere la pedalata. Per i gruppi muscolari prossimali sono stati utilizzati elettrodi autoadesivi di cm 10x5, con elettrodo negativo posto al terzo prossimale del muscolo ed elettrodo positivo posto al terzo distale. Per i muscoli distali sono stati utilizzati elettrodi autoadesivi di cm 5x5, con elettrodo prossimale negativo posto sul ventre muscolare ed elettrodo distale positivo posto a livello della giunzione miotendinea.

Trattamento convenzionale. I partecipanti allo studio hanno eseguito una sessione giornaliera di training convenzionale della durata di 90 minuti, 5 giorni alla settimana, per un totale di 30 giorni. Nel corso del trattamento convenzionale sono stati effettuati esercizi di rinforzo isometrico submassimale con bande elastiche, stretching ed attività aerobica condotta al 70% della frequenza cardiaca massimale. La frequenza cardiaca massimale è stata calcolata con la formula $220 - l'età$ della persona

Valutazione Clinica

La forza muscolare è stata valutata a livello dei muscoli flessori ed estensori del ginocchio e della caviglia mediante la scala MRC modificata. La scala MRC modificata ha sei gradi (0-5) seguiti da \pm per i valori intermedi (1+,2-,2+,3-,3+,4-,4+,5-). Al fine di avere una scala interamente numerica è stato aggiunto 0,33 al “ + ” e tolto 0,33 al “ - ”. La spasticità a carico della flessione dorsale dell’articolazione tibio-tarsica, della flessione del ginocchio e della flessione dell’anca è stata valutata con la Scala di Ashworth modificata. La scala di Ashworth modificata è suddivisa in 6 gradi come segue: Grado 0, nessun aumento del tono muscolare; Grado 1, lieve aumento del tono muscolare manifestato da una reazione di presa e rilascio o da resistenza minimale negli ultimi gradi dell’escursione articolare , quando la parte interessata viene portata in flessione o in estensione; Grado 1+, lieve aumento del tono muscolare manifestato da una reazione di presa seguita da resistenza minimale nella parte residua (meno della metà) del ROM; Grado 2, incremento del tono muscolare più marcato per la maggior parte del ROM, ma la parte interessata viene mossa facilmente; Grado 3, considerevole incremento del tono muscolare, movimento passivo difficoltoso; Grado 4 , parte interessata rigida in flessione o estensione. I partecipanti hanno inoltre effettuato il Six-Minutes Walking Test (6MWT) ed il Test del tempo di percorrenza dei 10 m (10mWT) per valutare la resistenza alla fatica e la velocità del cammino. Le valutazioni sono state effettuate alla baseline (Tempo 0) ed alla fine del trattamento (Follow-up).

Sicurezza

Nel corso dello studio i pazienti sono stati sotto quotidianamente sotto controllo di un medico al quale dovevano riferire ogni evento avverso o fastidio soggettivo. I partecipanti

erano liberi di interrompere il programma riabilitativo in qualsiasi momento senza alcuna ripercussione sul loro trattamento medico.

Analisi Statistica

Per ovviare ai limiti di numerosità del campione, le caratteristiche cliniche dei pazienti sono state confrontate alla baseline mediante il Test U di Mann-Whitney. Sono stati considerati significativi valori di $p \leq 0.05$. Per evitare bias di distribuzione e perdita di significatività statistica dovuta alla numerosità campionaria, la dimensione dell'effetto del trattamento, espresso come variazione del punteggio (follow-up meno baseline) per ogni paziente in ogni trattamento, è stata valutata con l'indice d di Cohen. L'indice d misura l'effetto del trattamento in tre livelli: piccolo, medio e grande. Questi livelli corrispondono a valori di d maggiori o uguali a 0.2, 0.5, and 0.8 rispettivamente. L'indice d può essere anche interpretato in termini di percentuale di discordanza tra le variazioni di punteggio dei due gruppi. Un indice d pari a 0.0 indica che la distribuzione dei punteggi dei due gruppi è la stessa. Un indice d pari a 0.8 indica una discordanza del 47.4% nelle due distribuzioni dei punteggi. La correlazione tra le variabili cliniche considerate è stata valutata mediante coefficiente di correlazione non parametrica di Spearman (r_s). Sono stati considerati valori di $r_s > \pm 0.7$.

4.2.3 Risultati

Pazienti

Otto pazienti (6 maschi e 2 femmine; età media 53.25 ± 11.64) con diagnosi clinicamente o geneticamente determinata di HSP, hanno preso parte allo studio. Le caratteristiche cliniche dei partecipanti sono riportate nella Tabella 1. Quattro partecipanti hanno

effettuato training con FES cycling. Gli altri, omogenei per età, sesso ed altre variabili cliniche, hanno eseguito un trattamento riabilitativo neuromotorio convenzionale. Nessuno dei partecipanti ha effettuato, nel corso dello studio, variazioni della terapia farmacologica in atto per la spasticità.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e genetiche alla baseline

	FES-cycling Training			Conventional Training			<i>P value</i>
	Mean	(SD)	Min-max	Mean	(SD)	Min-max	
Age	45.75	(10.24)	34-57	60,75	(7.84)	53-68	0.083
Disease Duration	18.50	(13.04)	5-40	25,75	(17.21)	8-48	0.773
Disease Onset	27.25	(18.75)	1- 46	35.00	(10.70)	20-47	0.564
MRC Quadriceps	4.41	(0.38)	4.00-5.00	4.83	(0,34)	4.33-5.00	0.686
MRC Hamstrings	3.04	(0.76)	2.00-3.33	3.67	(0,47)	3.00-4.00	0.200
MRC Tibialis Anterior	2.29	(1.51)	0.00-4.00	3.00	(0,98)	1.67-4.00	0.486
MRC Gastrocnemius	3.91	(1.21)	2.33-5.00	4.50	(0,58)	4.00-5.00	0.886
Mean MRC	3.41	(1.30)	0.00-5.00	4.00	(0,46)	3.50-4.50	0.886
Ashworth	6	(4.69)	2-11	4.75	(4.34)	1-9	0.304
	n	(%)		n	%		
Sex, male	3	75		3	75		
Genetic diagnosis	2*	50		3°	75		

*SPG4 ° SPG4/SACS/REEP1

Sicurezza

Tutti i pazienti hanno completato il programma riabilitativo. Il trattamento con FES cycling è stato ben tollerato e nessuno dei partecipanti ha riportato effetti collaterali (eruzioni cutanee, dolore, fatica).

Trattamento riabilitativo

La Tabella 2 riporta i valori delle misure di outcome considerate alla baseline ed al follow-up.

Tabella 2

Outcome measures	Patients									
	Participant 1		Participant 2		Participant 3		Participant 4			
	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up		
<i>FES Group</i>	MRC Quadriceps (R/L)	5/5	5/5	4+/4+	5/5	4/4	5/5	4+/4+	5/5	
	MRC Hamstrings (R/L)	2/2	3-/3-	4/4	4+/4+	3/3	4/3+	3+/3	3+/3+	
	MRC Tibialis Anterior (R/L)	3/3	3+/3+	3+/4	4/4+	2/3	3+/3+	0/0	3+/3	
	MRC Gastrocnemius (R/L)	5/5	5/5	5/5	5/5	2+/2+	3+/3	3+/3+	3+/3+	
	6MWT (mt)	164	175	347	376	349	368	113	128	
	10MWT (sec)	18	14	11	8	10	8	30	26	
	Ashworth	11	6	2	1	2	1	9	5	
	<i>Resistance Aerobic group</i>	MRC Quadriceps (R/L)	3/3	3+/3+	4+/4+	4+/4+	5/5	5/5	4/4+	5/5
		MRC Hamstrings (R/L)	2/2	2/2	3+/3+	3+/4	4/4	5/5	3+/3+	4-/4-
		MRC Tibialis Anterior (R/L)	3-/2-	3+/2-	3+/3+	3+/3+	4+/4+	5/5	3+/4	4/4+
MRC Gastrocnemius (R/L)		4/4	4/4	4+/4+	4+/4+	5/5	5/5	5/5	5/5	
6MWT (mt)		115	118	68	68	435	490	110	113	
10MWT (sec)		31	26	14	14	7	6	17	16	
Ashworth		9	8	8	8	1	0	1	0	

Gruppo FES

Tutti i partecipanti (3 maschi ed una femmina, età media 45.75 ± 10.24) hanno mostrato, al termine delle tre settimane di trattamento riabilitativo, una riduzione della spasticità con decremento del punteggio alla Scala di Ashworth da 6 ± 4.69 a 3.25 ± 2.62 . Si è rilevato inoltre un miglioramento delle forza muscolare con aumento del punteggio alla scala MRC da 3.42 ± 1.29 a 4.03 ± 0.85 . Il tempo necessario per percorrere 10 mt si è ridotto, passando da 17.25 ± 9.2 a 14 ± 8.48 sec.

Si è osservato un incremento della distanza percorsa in sei minuti da 243.25 ± 122.73 a 261.75 ± 128.78 mt. L'analisi della correlazione di Spearman ha mostrato la presenza di una forte correlazione tra la riduzione della spasticità ed il miglioramento della performance motoria al 10MWT (r_s 0.889). Nessuna correlazione è stata invece riscontrata tra miglioramento della spasticità e della forza muscolare (r_s 0.56).

Trattamento convenzionale

Tutti i partecipanti (3 maschi ed una femmina, età media $60,75 \pm 7.84$) hanno mostrato, al termine delle 6 settimane di trattamento riabilitativo, una riduzione della spasticità con decremento del punteggio alla Scala di Ashworth da 4.75 ± 4.34 a 4 ± 4.61 . Si è rilevato inoltre un miglioramento delle forza muscolare con aumento del punteggio alla scala MRC da 3.81 ± 0.91 a 4.08 ± 0.96 . Il tempo necessario per percorrere 10 mt si è ridotto, passando da 17.39 ± 9.88 a 15.49 ± 8.24 sec. Si è osservato un incremento della distanza percorsa in 6 minuti da mt 182 ± 169.97 a mt 197.25 ± 196.45 .

Confronto fra gruppi

La Tabella 3 mostra i risultati dell'analisi statistica condotta fra i due gruppi.

Il trattamento con FES cycling è risultato migliore del trattamento convenzionale nel ridurre la spasticità ($d=1.334$) e nel ridurre il tempo di percorrenza dei 10 mt ($d= 0.82$). Il training con FES ha determinato risultati più soddisfacenti nell'incrementare la forza del muscolo tibiale anteriore ($d=0.840$ a dx, $d=0.769$ a sx), del quadricipite femorale ($d=0.898$ a sx, $d=0.567$ a dx) e la forza muscolare globale ($d=0.582$ a dx, $d=0.578$ a sx). Non ci sono sostanziali differenze fra i due gruppi per quanto concerne il miglioramento al 6MWT ($d= 0.166$).

Tabella 3

		Mean	SD	Mean	(SD)	Cohen's Effect size (d)
MRC Quadriceps score change	L	0.58	0.41	0.25	0.32	0.898
	R	0.58	0.41	0.33	0.47	0.567
MRC Hamstrings score change	L	0.41	0.17	0.50	0.42	0.266
	R	0.5	0.43	0.33	0.47	0.365
MRC Tibialis Anterior score change	L	0.99	1.33	0.25	0.320	0.769
	R	1.33	1.35	0.50	0.33	0.840
MRC Gastrocnemius score change	L	0.16	0.33	0.00	0.00	0.704
	R	0.25	0.50	0.00	0.00	0.707
Mean MRC score change	L	0.61	0.79	0.26	0.34	0.578
	R	0.66	0.78	0.31	0.36	0.582
6MWT (minutes) score change		18.5	7.72	15.25	26.53	0.166
10MWT (meters) score change		3.25	0.95	1.89	2.11	0.823
Ashworth score change		2.75	2.06	0.75	0.5	1.334

4.2.4 Discussione

Questo studio pilota controllato ha dimostrato che la FES cycling è più efficace del training convenzionale nel migliorare la spasticità, la velocità del cammino e la forza muscolare nelle HSP. La differenza fra le due tipologie di training è pari al 65 % per quanto concerne la spasticità. E' noto che lo stretching del muscolo agonista (spastico)

determina un aumento della tensione intramuscolare che stimola gli organi muscolo-tendinei del Golgi con un meccanismo protettivo che inibisce la contrazione muscolare e promuove il rilassamento. [77] I meccanismi mediante i quali la FES riduce la spasticità non sono ancora completamente chiariti e sono in corso di studio. Si ritiene che l'elettrostimolazione possa ridurre la spasticità con molteplici meccanismi: facilitazione della post-activation depression, dell'inibizione ricorrente di Renshaw e dell'inibizione reciproca, aumento dell'attivazione delle fibre Ib e degli stimoli sensitivi cutanei. [79]

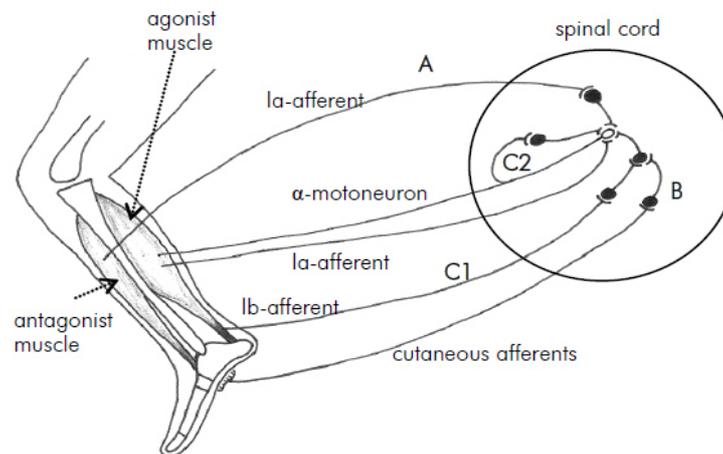


Figure 1: Neurophysiological pathways, which can provide inhibition of muscle tone. A: Contraction of the antagonist muscle will inhibit the α -motoneuron of the agonist. B: Stimulation of the low threshold sensors in the skin will activate the cutaneous afferents. These afferents inhibit the motoneuron. C1: Ib-afferents inhibit the motoneuron of the homonymous muscle. C2: Activation of the motoneuron has a negative feedback loop through the Renshaw cell.

E' possibile che la riduzione della spasticità possa influenzare le variazioni della forza muscolare, soprattutto nei casi di severa limitazione articolare. E' quello che si è verificato verosimilmente nella partecipante 4, che presentava alla baseline un MRC del tibiale anteriore pari a 0 dovuto ad un completo blocco articolare della tibio-tarsica ed al follow-up un MRC di 3, legato in parte anche al miglioramento dell'escursione articolare. Tuttavia, contrariamente a quanto riscontrato per la velocità del cammino, non si è rilevata

alcuna correlazione tra l'aumento della forza muscolare e la riduzione della spasticità. Questo indica che il miglioramento della stenia segmentaria indotto dalla FES è effettivo e non legato esclusivamente alla variazione del tono muscolare. Di particolare rilevanza è l'aumento della stenia del muscolo tibiale anteriore, con un 47% di efficacia in più della FES rispetto al trattamento convenzionale. Questo dato è di particolare rilevanza clinica in quanto consente di modificare una delle principali alterazioni della deambulazione nelle HSP, la tendenza a camminare sulla punta dei piedi, fattore di rischio per l'insorgenza di severi eventi avversi. Quanto rilevato conferma i dati riscontrati da Marsden et al [80]. L'autore rileva un aumento della forza del muscolo tibiale anteriore e della velocità del cammino in 11 pazienti con HSP che hanno utilizzato per oltre sei mesi la FES per il piede cadente. Il riscontro di un basso indice di correlazione, indica inoltre che la FES cycling è risultata efficace nel migliorare la resistenza alla fatica, in maniera analoga al trattamento convenzionale che prevedeva l'effettuazione di attività aerobica. La FES ha inoltre il vantaggio di poter essere applicata localmente influenzando il tono muscolare dove occorre e non a livello sistemico, come avviene invece in caso di farmaci somministrati per via orale. La metodica, ben tollerata e non invasiva, può essere considerata un trattamento efficace per migliorare le performances motorie nelle HSP.

5. ATTIVITA' IN CORSO – CASE REPORT

5.1 Differenti effetti della ctDCS e della tDCS-M1 nell'Atassia Spino-Cerebellare di tipo 1.

L'Atassia Spino-Cerebellare di tipo 1 (SCA1, OMIM #164400) è una patologia neurodegenerativa a trasmissione autosomica dominante causata dall'espansione della tripletta CAG nel gene che codifica per l'atassina 1 sul Cromosoma 6p22-p23. [30] La proteina determina la formazione di aggregati nucleari con degenerazione della cellule cerebellari di Purkinje. Studi anatomopatologici evidenziano anche un coinvolgimento dell'encefalo con atrofia dei lobi frontali, temporali e parietali. [34] La SCA 1 è clinicamente caratterizzata da atassia della marcia, disartria, disfagia, dismetria, adiadococinesia, alterazione dei movimenti oculari e deficit cognitivi. Non esistono attualmente trattamenti sintomatici e/o in grado di contrastare l'avanzare della malattia. A causa della presenza di disturbi cognitivi [33] con associata scarsa consapevolezza di malattia, spesso i soggetti affetti manifestano una scarsa compliance nei confronti del trattamento riabilitativo convenzionale. Molto recentemente sta emergendo il ruolo della Stimolazione Transcranica a correnti continue (tDCS) nel controllo delle sindromi atassiche. [81,82] La tDCS è una nuova metodica riabilitativa non invasiva, priva di effetti collaterali, che viene utilizzata per modulare il potenziale di membrana neuronale, aumentando o diminuendo la funzionalità dell'area stimolata.[44]

Recentemente, Pozzi et al,[81] in considerazione del riscontro nelle atassie di una ridotta eccitabilità corticale, hanno effettuato un ciclo di tDCS anodica a livello della corteccia motrice primaria (tDCS-M1) in 3 pazienti che hanno mostrato un miglioramento della

simmetria ed un restringimento della base d'appoggio nel cammino. Benussi et al [82] hanno invece dimostrato un miglioramento clinico dell'atassia in 19 pazienti dopo ciclo di tDCS anodica cerebellare (ctDCS).

L'obiettivo primario dello studio è quello di confrontare l'efficacia della tDCS cerebellare (ctDCS) e della tDCS dell'area motrice primaria (tDCS-M1) nel migliorare la dismetria degli arti superiori nella SCA1. Gli obiettivi secondari sono quelli di valutare l'efficacia delle due metodiche nel migliorare il tempo di esecuzione e la scomposizione del movimento.

5.1.1 Case Report

La paziente è una donna di 56 anni con familiarità per SCA1 (padre e due zie paterne). Un figlio è affetto da autismo. L'esordio della sintomatologia risale all'età di 42 anni, periodo in cui la diagnosi di SCA1 è stata geneticamente confermata con il riscontro di 45 triplette CAG sul gene dell'atassina1. L'esame neurologico obiettivo al momento del ricovero evidenziava: paziente vigile, collaborante. Disartria con linguaggio poco intellegibile. Iniziale disfagia per i liquidi. Marcata dismetria ai quattro arti. Adiadococinesia. Babinski bilaterale. Rallentamento dei movimenti oculari saccadici. Limitazione dei movimenti di verticalità di sguardo. Deambulazione non possibile in autonomia. Sul versante neuropsicologico: deficit di attenzione sostenuta (concentrazione), con tendenza ad abbandonare la prova quando questa veniva percepita come troppo impegnativa. Riscontro di risposte comportamentali emotive incongrue con difficoltà ad inibire risposte comportamentali eccessive, in un quadro di sindrome frontale. Intelligenza verbale deficitaria nella componente del ragionamento logico e delle capacità di astrazione.

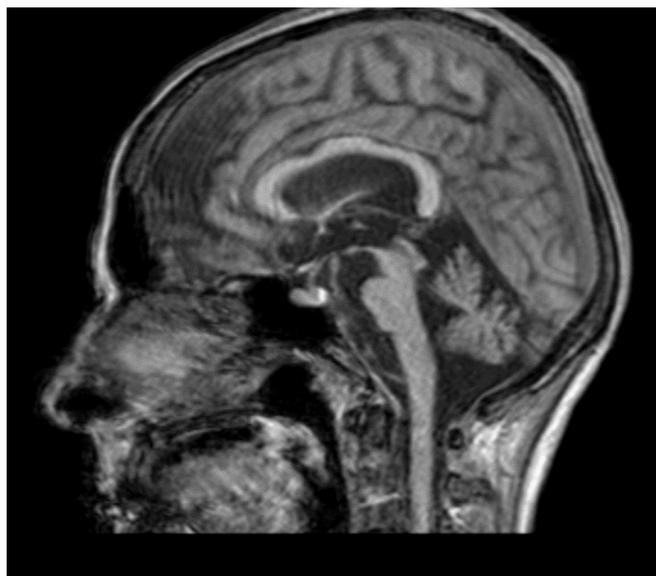


Fig.1 RMN encefalo. Maggior ampiezza dei solchi corticali della convessità encefalica. Atrofia cerebellare con particolare riguardo al verme cerebellare e con ponte e midollo allungato più sottili, in verosimile quadro degenerativo che interessa il cervelletto e i peduncoli cerebellari medi e inferiori.

Protocollo dello studio. Lo schema mostra il disegno dello studio, la cui durata totale è stata di 4 settimane.

	GIORNO 1	GIORNO 2	GIORNO 3	GIORNO 4	GIORNO 5
Settimana 1 tDCS Anodica Cerebellare (a)	Baseline (ab1) Tratt. 1 (at1)	Tratt. 2	Tratt. 3	Tratt. 4	Tratt. 5 (at5)
Settimana 2 Wash-out	Follow-up (af1)	–	–	–	–
Settimana 3 tDCS Anodica M1 (b)	Baseline (bb1) Tratt. 1 (bt1)	Tratt. 2	Tratt. 3	Tratt. 4	Tratt. 5 (bt5)
Settimana 4 Wash-out	Follow-up (bf1)	–	–	–	–

Nella prima e nella terza settimana sono state effettuate rispettivamente ctDCS anodica e tDCS-M1 anodica per 5 giorni consecutivi. La paziente ha effettuato con l'arto superiore destro movimenti finalizzati di flessione del gomito, reaching, estensione del gomito ed

adduzione-abduzione del braccio mediante Realtà Virtuale. Per ogni tipologia di movimento sono stati valutati l'errore spaziale (mm^2), il tempo di esecuzione (sec) ed il numero di submovimenti.

Nella seconda e nella quarta settimana è stato effettuato un wash out; nel primo giorno delle settimane II-IV è stata effettuata una valutazione in Realtà Virtuale senza neuromodulazione con tDCS.

tDCS Anodica Cerebellare (ctDCS)

La cTDCS è stata effettuata nella prima settimana dello studio. L' elettrodo di superficie attivo, della misura di 5x5 cm, è stato posizionato sullo scalpo in corrispondenza dell'emisfero cerebellare destro. L'elettrodo di riferimento è stato posizionato in corrispondenza della zona sovraorbitaria controlaterale. La durata della stimolazione è stata di 20 minuti; l'intensità di stimolazione pari a 2mA.

tDCS Anodica M1(tDCS-M1)

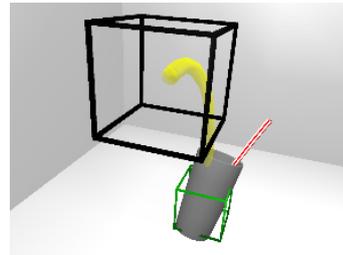
La TDCS anodica di M1 è stata effettuata nella terza settimana dello studio. L' elettrodo di superficie attivo è stato posizionato sullo scalpo in corrispondenza della corteccia motrice primaria sinistra . L'elettrodo di riferimento è stato posizionato in sede frontale destra. La durata della stimolazione è stata di 20 minuti; l'intensità di stimolazione pari a 2mA.

Realtà Virtuale

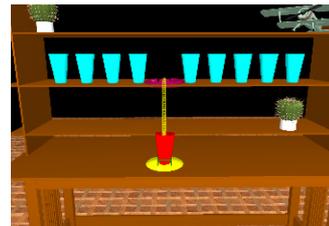
La Paziente ha effettuato training con realtà Virtuale mediante utilizzo di un PC (PC workstation connessa ad un sistema 3D motion-tracking (Polemus 3 Space FasTrack, Vermont, U.S.A. –position signal 0.76 mm RMS; orientation signal 0:15°RMS; range resolution 0.0005cm/cm e 0025°; latency 4 msec unfiltered; sampling frequency 120Hz)

e ad un proiettore ad alta risoluzione LCD che mostrava lo scenario virtuale su uno schermo a parete) e di un sistema riabilitativo denominato “Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS) sviluppato al Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA. Nel corso del training la paziente era seduta di fronte allo schermo dove veniva proiettato uno scenario virtuale. La paziente indossava sulla mano destra un guanto cui è stato applicato un oggetto reale sincronizzato con l’oggetto virtuale. L’oggetto reale era dotato di un sensore elettromagnetico in grado di registrare i movimenti del braccio mediante un ricevitore magnetico. La paziente doveva muovere l’oggetto reale seguendo la traiettoria dell’oggetto virtuale visualizzato sul monitor LCD sulla base del task richiesto. I task motori sono stati quattro:

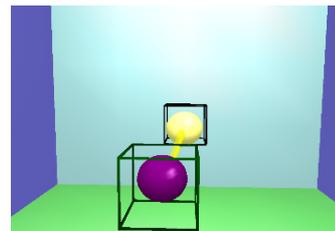
- Movimenti di flessione del gomito: la paziente doveva portare il bicchiere nel cubo in alto, seguendo la traiettoria in giallo. Nella realtà doveva portare la mano dal basso verso la bocca.



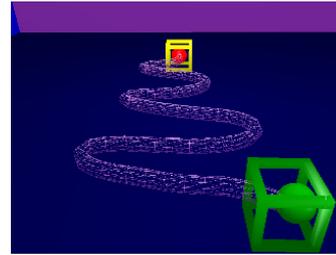
- Movimenti di Reaching: la paziente doveva raggiungere lo spazio vuoto per mettere il bicchiere nella giusta posizione nello scaffale. Nella realtà doveva portare la mano in avanti ed in alto.



- Movimenti di estensione del gomito: la paziente doveva spostare la sfera rosa verso la sfera gialla. Nella realtà doveva portare la mano dall’anca al ginocchio.



- Movimenti di abduzione-adduzione del braccio: la paziente doveva seguire il tragitto e portare la sfera verde verso quella rossa. Nella realtà doveva addurre-abdurre il braccio tenuto in basso, spostandolo in avanti.



Sicurezza dello studio

Nel corso dell'intero studio la paziente è stata sotto diretta osservazione medica. Sia nel corso della stimolazione che nel periodo successivo ci si è ripetutamente accertati della comparsa di eventi avversi o di effetti collaterali anche minimi. La paziente era libera di interrompere il trattamento in qualsiasi momento, senza alcuna ripercussione sulle sue cure mediche.

Analisi Statistica

L'analisi statistica è stata effettuata, previa normalizzazione dei dati per la baseline, mediante ANOVA a due vie a misure ripetute. Sono state considerate tre variabili dipendenti: l'errore spaziale (mm^2), il tempo di esecuzione (sec) e il numero di submovimenti per ogni ripetizione. Le variabili indipendenti sono state il tipo di trattamento (ctDCS e tDCS- M1) ed il tempo. Per quanto concerne il tempo, l'analisi è stata effettuata valutando le variazioni delle variabili dipendenti nei seguenti momenti: Baseline alla prima settimana (ab1), primo trattamento con ctDCS (at1), ultimo trattamento con ctDCS (at5), Follow-up alla seconda settimana dopo esecuzione ctDCS (af1), Baseline alla terza settimana (bb1), primo trattamento con tDCS-M1 (bt1), ultimo trattamento con tDCS-M1 (bt5), Follow-up alla quarta settimana dopo esecuzione tDCS-

M1 (bf1). I dati sono presentati come $\text{media} \pm \text{deviazione standard}$. Sono stati considerati significativi valori di $p < 0,05$. E' stata effettuata valutazione della sfericit  mediante il Test di Mauchly.

5.1.2 Risultati

Sicurezza

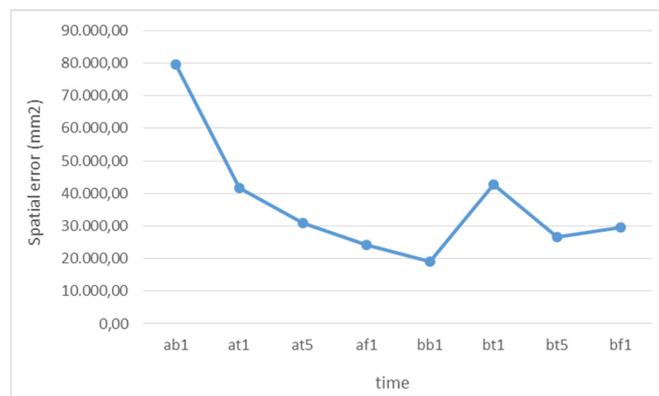
Sia la ctDCS che la tDCS- M1 sono state ben tollerate. Non sono stati riscontrati effetti collaterali, ad eccezione di un lieve prurito della cute sottostante l'elettrodo attivo, la cui entit  tuttavia non   stata tale da richiedere l'interruzione dello studio. Ottima la compliance da parte della paziente che ha espresso soddisfazione nei confronti del trattamento.

Trattamento

Flessione del gomito

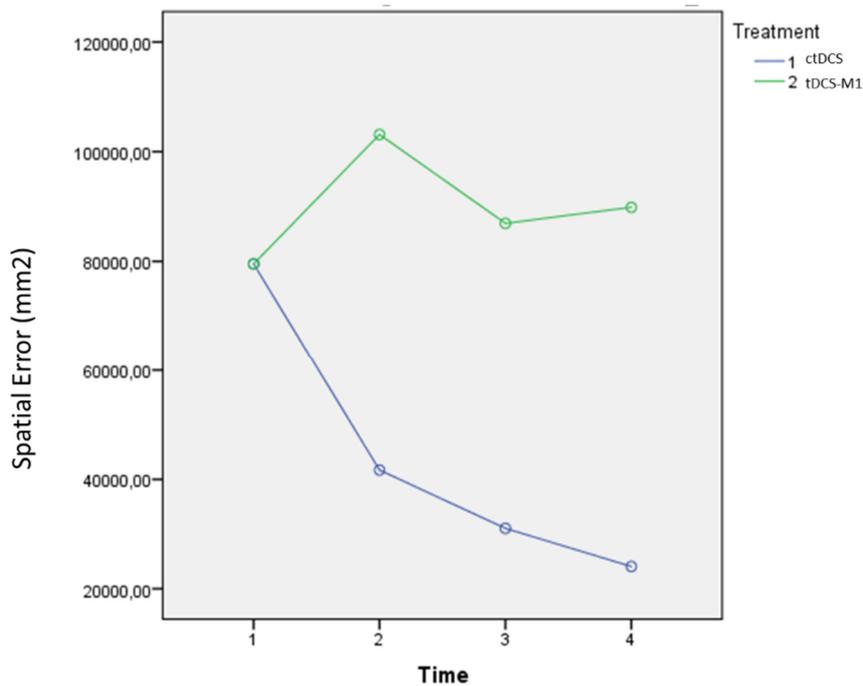
Come mostrato nella Fig.2, la ctDCS ha determinato una riduzione dell'errore spaziale da $\text{mm}^2 79.537,46 \pm 29.609,07$ a $\text{mm}^2 24.069,82 \pm 11.525,32$. In seguito a tDCS-M1 si   rilevato un aumento dell'errore spaziale da $\text{mm}^2 19.189,98 \pm 9.253,57$ a $\text{mm}^2 29.509,77 \pm 9.082,50$.

Fig.2



L'analisi statistica effettuata con ANOVA dopo normalizzazione per la baseline (Fig.3), ha mostrato una differenza significativa tra i due trattamenti ($p < 0,0001$) a favore della ctDCS. Il miglioramento indotto dalla ctDCS è risultato essere significativo ($p = 0,001$) già nel corso della prima stimolazione ($p = 0,012$).

Fig. 3

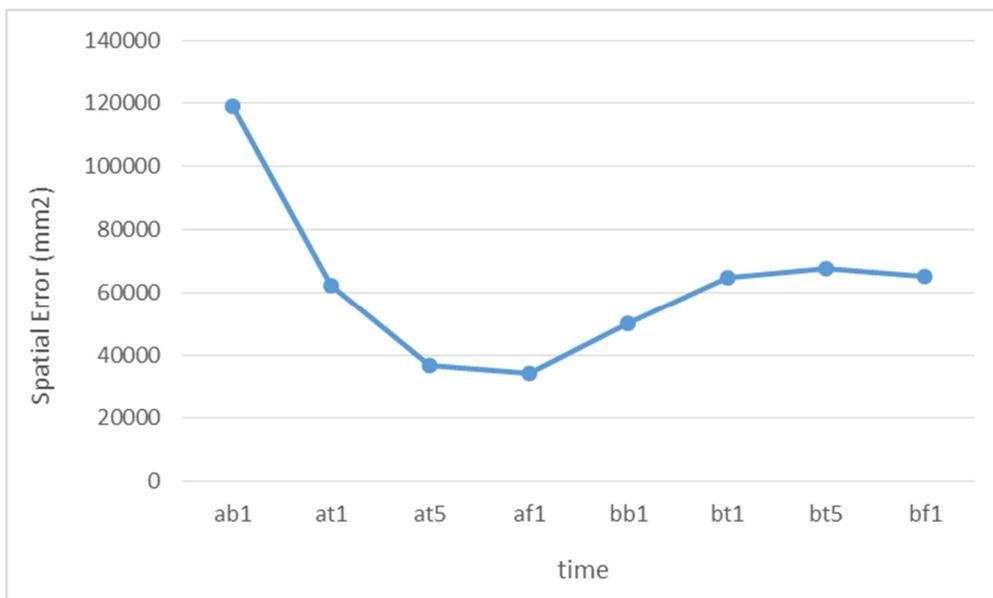


Il tempo medio di effettuazione delle prove si è ridotto da sec. $41,85 \pm 33,46$ a sec. $3,93 \pm 1,92$ dopo ctDCS il cui effetto ha continuato a persistere all'inizio della terza settimana quando è stata intrapresa tDCS-M1 che ha determinato una variazione da sec. $3,46 \pm 1,13$ a sec. $2,62 \pm 0,34$. I submovimenti si sono ridotti da 45 ± 37 a 17 ± 12 dopo ctDCS cerebellare e da 13 ± 5 a 10 ± 2 dopo tDCS-M1.

Reaching

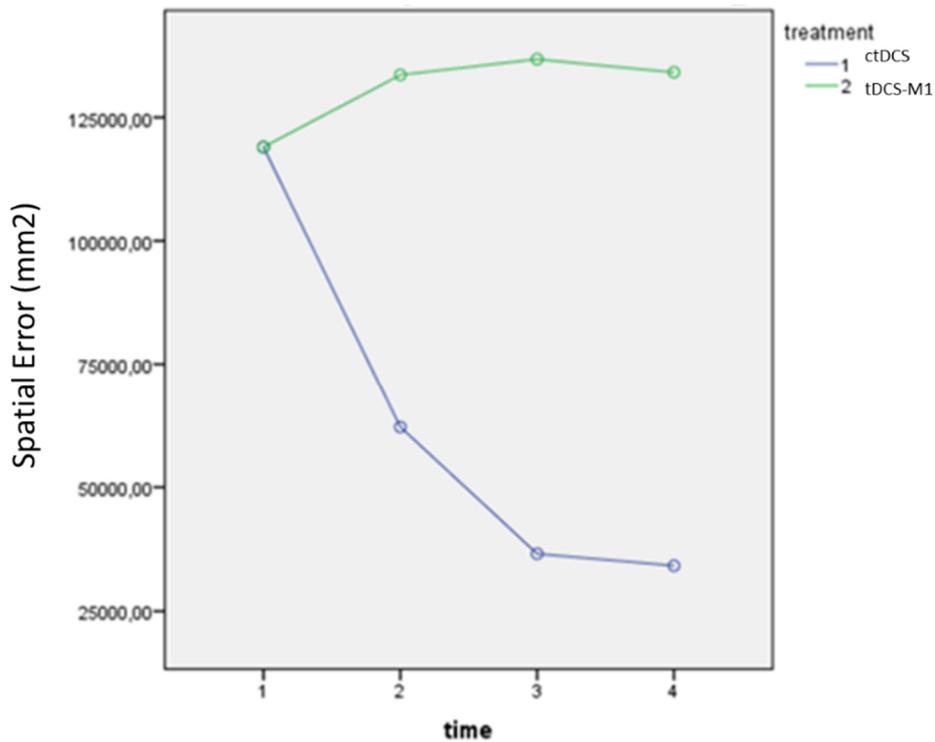
Come mostrato nella Fig. 4, in corso di ctDCS l'errore spaziale si è ridotto da $\text{mm}^2 111.8982,81 \pm 41.378,81$ a $\text{mm}^2 34.163,32 \pm 11.458,80$. Nel corso di tDCS-M1 si è rilevato invece un incremento dell'errore spaziale da $\text{mm}^2 49.961 \pm 22.337,86$ a $\text{mm}^2 65.100,97 \pm 18.686,27$.

Fig.4



L'analisi statistica effettuata con ANOVA dopo normalizzazione per la baseline, ha mostrato una differenza significativa tra i due trattamenti ($p < 0,014$) a favore della ctDCS (Fig. 5). Il miglioramento della performance motoria è risultato significativo ($p = 0.002$) già nel corso della prima stimolazione ($p = 0.023$) e massimo nel corso dell'ultima ($p = 0.009$)

Fig. 5



Il tempo medio di effettuazione delle prove si è ridotto da sec. $62,75 \pm 25,52$ a sec. $3,93 \pm 2,07$ dopo ctDCS cerebellare il cui effetto ha continuato a persistere all'inizio della terza settimana quando è stata intrapresa TDCS-M1. In corso di tDCS-M1 il tempo di esecuzione delle prove è passato da sec. $4,75 \pm 1,83$ a sec. $5,95 \pm 4,11$.

La tDCS cerebellare ha determinato anche un miglioramento della scomposizione del movimento con riduzione del numero di submovimenti da 65 ± 28 a 21 ± 9 . L'effetto si è mantenuto fino all'inizio della terza settimana quando è stata intrapresa tDCS-M1 che ne ha determinato un lieve incremento da 19 ± 7 a 23 ± 15 . L'ANOVA ha mostrato una significativa differenza fra i due trattamenti ($p=0.002$). Il miglioramento clinico, in

termini di riduzione dei submovimenti non ha raggiunto invece livelli di significatività ($p=0.155$).

Estensione gomito

L'errore spaziale si è ridotto da $\text{mm}^2 44.693,75 \pm 19.241,63$ a $\text{mm}^2 31.204,76 \pm 13.133$. La tDCS-M1 ha determinato una riduzione dell'errore da $\text{mm}^2 43.917,9 \pm 18.813,9$ a $\text{mm}^2 33.160,3 \pm 17.115,43$.

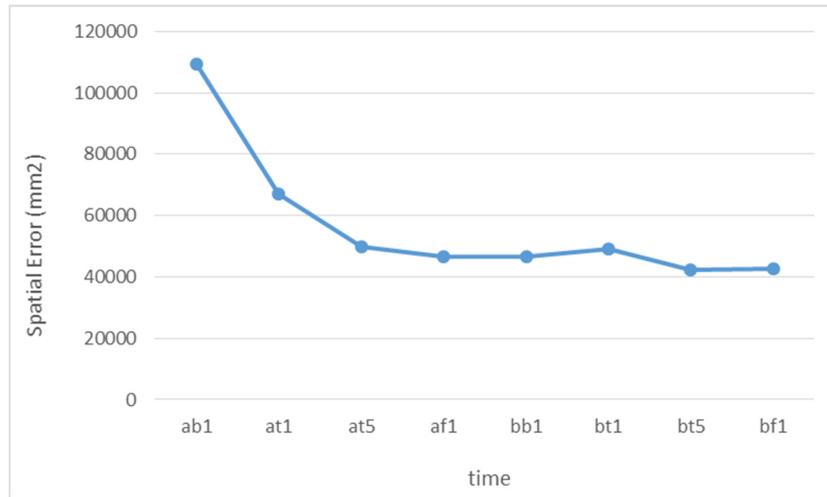
L'ANOVA dopo normalizzazione per la baseline non ha mostrato una differenza significativa tra i due trattamenti ($p=0,529$). Il miglioramento non è risultato statisticamente significativo ($p=0.253$). Il tempo di effettuazione delle prove è passato da $\text{sec. } 11,86 \pm 7,96$ a $\text{sec. } 5,20 \pm 1,81$ dopo ctDCS e da $\text{sec } 5,98 \pm 2,79$ a $\text{sec } 5,59 \pm 2,09$ dopo tDCS-M1. Il numero di sub movimenti è passato da 50 ± 38 a 21 ± 9 dopo ctDCS e da 23 ± 11 a 23 ± 7 dopo tDCS- M1.

Abduzione-Adduzione braccio

In questa prova non è stata considerata la baseline, in considerazione del fatto che la paziente è riuscita ad ultimare soltanto una ripetizione. Il numero di ripetizioni è aumentato già nel corso del primo trattamento.

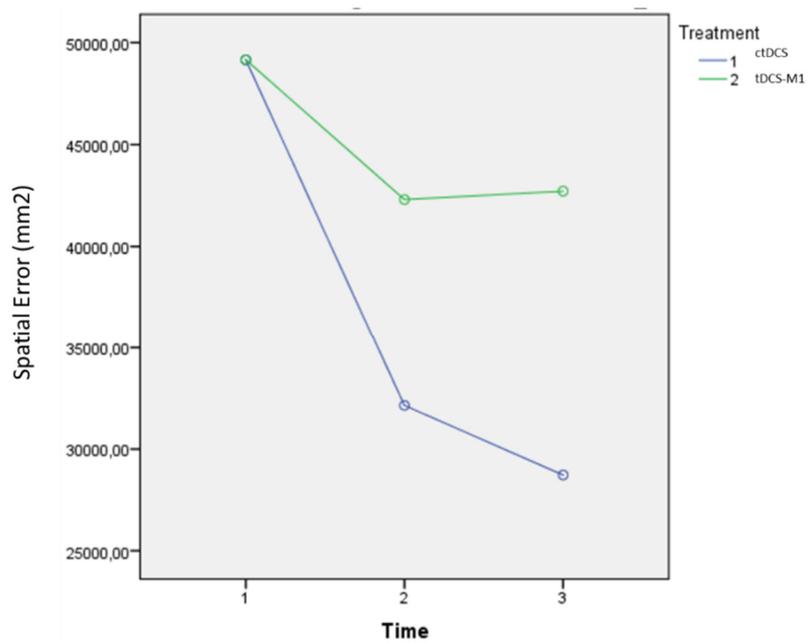
Dopo ctDCS l'errore spaziale si è ridotto da $\text{mm}^2 66.907,55 \pm 18.701,58$ a $\text{mm}^2 46.477,55 \pm 18.555,61$. La tDCS-M1 ha determinato una riduzione dell'errore da $\text{mm}^2 49.154,82 \pm 21.087,75$ a $\text{mm}^2 42.713,92 \pm 22.914,31$. (Fig. 6)

Fig.6



Come mostrato nella Fig. 7, dopo normalizzazione per l'inizio del trattamento non si è rilevata una differenza significativa tra ctDCS e tDCS-M1 ($p=0.336$) ed il miglioramento non è risultato significativo ($p=0.653$)

Fig. 7



Il tempo di effettuazione delle prove si è ridotto da sec 25,84±4,46 a sec 20,38±6,74 dopo ctDCS e da sec 17,67± 6,79 a sec 11,95±4,87 dopo tDCS- M1. Il numero di sub movimenti è passato da 102±17 a 80±27 dopo ctDCS e da 70±30 a 49±22 dopo tDCS M1.

5.1.3 Discussione

In conclusione, sia la ctDCS che la tDCS-M1 sono state ben tollerate, non hanno determinato effetti collaterali e sono state effettuate con soddisfazione dalla paziente che ha completato l'intero programma riabilitativo. Per quanto concerne i movimenti di flessione del gomito e di reaching, la ctDCS ha determinato una significativa riduzione della dismetria ed è risultata significativamente superiore alla tDCS-M1. Ad eccezione dei movimenti di estensione del gomito, l'effetto della ctDCS nel ridurre la dismetria si è mantenuto anche dopo tre settimane e di questo fatto si deve tener conto in caso di pianificazione di ulteriori studi. Benchè la tDCS-M1 tenda a ripristinare l'eccitabilità corticale alterata nelle atassie, è possibile che questa sia risultata meno efficace della ctDCS in quanto la stimolazione del cervelletto interverrebbe maggiormente nei processi di "motor learning" con conseguenti ricadute positive a livello funzionale. Ulteriori trials clinici sono fortemente auspicabili, sulla base dei risultati ottenuti.

6. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

In conclusione, i nostri dati mostrano che le metodiche riabilitative indagate sono sicure e ben tollerate nelle malattie neuromuscolari e neurodegenerative. Non sono stati riscontrati drop-out nei trattamenti e non si è rilevato alcun peggioramento nelle scale cliniche utilizzate. Al contrario si è riscontrato in tutti i partecipanti un miglioramento nei parametri di autonomia della vita quotidiana. Tuttavia il dato più rilevante emerso dal nostro studio è che nei pazienti trattati è stato evidenziato un miglioramento delle performances motorie. Ciò indica un vero e proprio recupero neurologico che va al di là di quelli che possono essere i meccanismi di compenso funzionale tradizionalmente attribuiti alla riabilitazione.

In particolare, nella DM1 la FES risulta superiore al trattamento convenzionale nel migliorare la fatica e la forza muscolare. Questi effetti si sono riscontrati anche nei casi di severa compromissione muscolare, condizione per la quale non sono attualmente disponibili altre possibilità terapeutiche. I meccanismi attraverso i quali la FES esplica queste azioni sono ancora in fase di studio. Un recente lavoro indica che a livello molecolare l'elettrostimolazione potrebbe determinare una up-regolazione dei livelli di IGF1 con aumento dei processi anabolici muscolari e riduzione di quelli catabolici, un'attivazione delle cellule satelliti con incremento dei livelli di miogenina, miR-206 e miR-1 ed una riduzione delle fibrosi muscolare mediante azione sul miR-29. Altri studi evidenziano inoltre che la FES può influenzare la plasticità muscolare, il meccanismo attraverso il quale le fibre muscolari adattano le loro proprietà metaboliche e contrattili in risposta a vari stimoli esterni. La FES determina infatti uno shift verso una tipologia fibrale con caratteristiche di tipo I, a contrazione più lenta e con maggiore resistenza alla

fatica, con up-regolazione degli enzimi ossidativi e down-regolazione dell'attività glicolitica. Questo meccanismo, particolarmente rilevante per i pazienti con DM1 che presentano un'atrofia preferenziale delle fibre del tipo I, può essere alla base dell'azione della FES sulla fatica. La contrazione muscolare sincrona indotta dalla FES può inoltre consentire l'attivazione di fibre muscolari abitualmente non utilizzate in condizioni fisiologiche, in considerazione del fatto che la contrazione volontaria è asincrona, secondo il principio di Henneman. Nel nostro studio non è stato possibile identificare il ruolo di questi meccanismi. La RMN muscolare convenzionale non ha infatti consentito di mostrare una riduzione dell'infiltrazione adiposa e/o un aumento della massa muscolare dopo tre settimane di training. I risultati del nostro studio confermano pertanto l'opportunità di ricorrere a metodiche di RMN quantitativa secondo tecnica Dixon che, contrariamente alle metodiche qualitative, possono consentire di determinare modificazioni del volume muscolare e dell'infiltrazione adiposa anche nell'arco di un breve periodo di tempo.

Nelle HSP il training con FES è risultato preferibile al trattamento convenzionale nel migliorare la spasticità e la forza muscolare. L'azione della FES sulla spasticità è ancora in corso di valutazione. Gli studi finora effettuati indicano che la FES può ridurre la spasticità non attraverso un unico meccanismo, come succede per altri interventi di tipo riabilitativo o farmacologico. La FES potrebbe agire mediante molteplici processi, il più studiato dei quali è la facilitazione della post-activation depression, cioè la facilitazione della depressione del riflesso da stiramento indotta dall'attivazione muscolare ripetuta. Anche altri meccanismi possono essere coinvolti: facilitazione dell'inibizione ricorrente di Renshaw e dell'inibizione reciproca, aumento dell'attivazione delle fibre Ib e degli stimoli sensitivi cutanei.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Thornton CA. Myotonic dystrophy. *Neurol Clin.* 2014 Aug;32(3):705-19
2. Meola G, Cardani R. Myotonic dystrophies: An update on clinical aspects, genetic, pathology, and molecular pathomechanisms. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Apr;1852(4):594-606
3. Chau A, Kalsotra A Developmental insights into the pathology of and therapeutic strategies for DM1: Back to the basics. *Dev Dyn.* 2015 Mar;244(3):377-90.
4. Pettersson OJ, Aagaard L, Jensen TG, Damgaard CK. Molecular mechanisms in DM1 - a focus on foci. *Nucleic Acids Res.* 2015 Feb 27;43(4):2433-41.
5. Hammaren E, Kjellby-Wendt G, Lindberg C. Muscle force, balance and falls in prospective cohort study. *Neuromuscul Disord.* Feb 2015;25(2):141-148.
6. Hammaren E, Kjellby-Wendt G, Kowalski J, Lindberg C. Factors of importance for dynamic balance impairment and frequency of falls in individuals with myotonic dystrophy type 1 - a cross-sectional study - including reference values of Timed Up & Go, 10m walk and step test. *Neuromuscul Disord.* Mar 2014;24(3):207-215.
7. Cudia P, Bernasconi P, Chiodelli R, Mangiola F, Bellocchi F, Dello Russo A, Angelini C, Romeo V, Melacini P, Politano L, Palladino A, Nigro G, Siciliano G, Falorni M, Bongiorno MG, Falcone C, Mantegazza R, Morandi L. Risk of arrhythmia in type I myotonic dystrophy: the role of clinical and genetic variables. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80(7): 790-793.

8. Finsterer J, Stöllberger C, Maeztu C. Sudden cardiac death in neuromuscular disorders. *Int J Cardiol.* 2016 Jan 15;203:508-15.
9. Russo V, Di Meo F, Rago A, Papa AA, Molino A, Mosella M, Politano L, Russo MG, Nigro G. Paroxysmal atrial fibrillation in myotonic dystrophy type 1 patients: P wave duration and dispersion analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015 Apr;19(7):1241-8.
10. Lau JK, Sy RW, Corbett A, Kritharides L. Myotonic dystrophy and the heart: A systematic review of evaluation and management. *Int J Cardiol.* 2015 Apr 1;184:600-8.
11. Dhand UK, Raja F, Aggarwal K. Structural myocardial involvement in adult patients with type 1 myotonic dystrophy. *Neurol Int.* 2013 Mar 21;5(1):e5.
12. Laberge L, Gagnon C, Dauvilliers Y. Daytime sleepiness and myotonic dystrophy. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2013 Apr;13(4):340.
13. Hilton-Jones D, Bowler M, Lochmueller H, Longman C, Petty R, Roberts M, Rogers M, Turner C, Wilcox D. Modafinil for excessive daytime sleepiness in myotonic dystrophy type 1--the patients' perspective. *Neuromuscul Disord.* 2012 Jul;22(7):597-603.
14. Schneider-Gold C, Bellenberg B, Prehn C, Krogias C, Schneider R, Klein J, Gold R, Lukas C. Cortical and Subcortical Grey and White Matter Atrophy in Myotonic Dystrophies Type 1 and 2 Is Associated with Cognitive Impairment, Depression and Daytime Sleepiness. *PLoS One.* 2015 Jun 26;10(6):e0130352.

15. Bertrand JA, Jean S, Laberge L, Gagnon C, Mathieu J, Gagnon JF, Richer L. Psychological characteristics of patients with myotonic dystrophy type 1. *Acta Neurol Scand.* 2015 ; 132(1):49-58.
16. Rakocevic-Stojanovic V, Peric S, Madzarevic R, Dobricic V, Ralic V, Ilic V, Basta I, Nikolic A, Stefanova E. Significant impact of behavioral and cognitive impairment on quality of life in patients with myotonic dystrophy type 1. *Clin Neurol Neurosurg.* 2014 Nov;126:76-81.
17. Caso F, Agosta F, Peric S, Rakočević-Stojanović V, Copetti M, Kostic VS, Filippi M. Cognitive impairment in myotonic dystrophy type 1 is associated with white matter damage. *PLoS One.* 2014 Aug 12;9(8):
18. Conforti R, de Cristofaro M, Cristofano A, Brogna B, Sardaro A, Tedeschi G, Cirillo S, Di Costanzo A. Brain MRI abnormalities in the adult form of myotonic dystrophy type 1: A longitudinal case series study. *Neuroradiol J.* 2016 Feb;29(1):36-45
19. Bianchi ML, Leoncini E, Masciullo M, Modoni A, Gadalla SM, Massa R, Rastelli E, Terracciano C, Antonini G, Bucci E, Petrucci A, Costanzi S, Santoro M, Boccia S, Silvestri G. Increased risk of tumor in DM1 is not related to exposure to common lifestyle risk factors. *J Neurol.* 2016 Mar;263(3):492-8.
20. Tesson C, Koht J, Stevanin G. Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: how unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology. *Hum Genet.* 2015 Jun; 134(6):511-38.
21. Finsterer J, Löscher W, Quasthoff S, Wanschitz J, Auer-Grumbach M, Stevanin G. Hereditary spastic paraplegias with autosomal dominant, recessive, X-linked, or maternal trait of inheritance. *J Neurol Sci.* 2012 Jul 15;318(1-2):1-18

22. Lance JW. The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenberg Lecture. *Neurology*. 1980 Dec;30(12):1303-13
23. Harding AE. Hereditary spastic paraplegias. *Semin Neurol*. 1993 Dec;13:333-6.
24. R, Wiethoff S, Martus P, Karle KN, Otto S, Klebe S, Klimpe S, Gallenmüller C, Kurzwelly D, Henkel D, Rimmel F, Stolze H, Kohl Z, Kassubek J, Klockgether T, Vielhaber S, Kamm C, Klopstock T, Bauer P, Züchner S, Liepelt-Scarfone I, Schöls L. Hereditary Spastic Paraplegia -clinico-genetic lessons from 608 patients. *Ann Neurol*. 2016 Feb 9.
25. Lo Giudice T1, Lombardi F2, Santorelli FM3, Kawarai T4, Orlacchio A. Hereditary spastic paraplegia: clinical-genetic characteristics and evolving molecular mechanisms. *Exp Neurol*. 2014 Nov;261:518-39
26. Hekman KE, Gomez CM The autosomal dominant spinocerebellar ataxias: emerging mechanistic themes suggest pervasive Purkinje cell vulnerability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 May;86(5):554-61
27. Shakkottai VG, Fogel BL Clinical neurogenetics: autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Neurol Clin*. 2013 Nov;31(4):987-1007
28. Rossi M, Perez-Lloret S, Doldan L, Cerquetti D, Balej J, Millar Vernetti P, Hawkes H, Cammarota A, Merello M Autosomal dominant cerebellar ataxias: a systematic review of clinical features. *Eur J Neurol*. 2014 Apr;21(4):607-15.
29. Harding AE Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet*. 1983 May 21;1(8334):1151-5.

30. Whaley NR, Fujioka S, Wszolek ZK. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: a review of the phenotypic and genotypic characteristics. *Orphanet J Rare Dis*. 2011 May 28;6:33.
31. Rüb U, Schöls L, Paulson H, Auburger G, Kermer P, Jen JC, Seidel K, Korf HW, Deller T. Clinical features, neurogenetics and neuropathology of the polyglutamine spinocerebellar ataxias type 1, 2, 3, 6 and 7. *Prog Neurobiol*. 2013 May;104:38-66.
32. Ju H, Kokubu H, Lim J Beyond the glutamine expansion: influence of posttranslational modifications of ataxin-1 in the pathogenesis of spinocerebellar ataxia type 1. *Mol Neurobiol*. 2014 Dec;50(3):866-74.
33. Klinker I, Minnerop M, Schmitz-Hübsch T, Hendriks M, Klockgether T, Wüllner U, Helmstaedter C. Neuropsychological features of patients with spinocerebellar ataxia (SCA) types 1, 2, 3, and 6. *Cerebellum*. 2010 Sep;9(3):433-42.
34. Seidel K, Siswanto S, Brunt ER, den Dunnen W, Korf HW, Rüb U. Brain pathology of spinocerebellar ataxias. *Acta Neuropathol*. 2012 Jul;124(1):1-21
35. Doucet BM, Lam A, Griffin L. Neuromuscular electrical stimulation for skeletal muscle function. *Yale J Biol Med*. Jun 2012;85(2):201-215.
36. Hunt KJ, Fang J, Saengsuwan J, Grob M, Laubacher M. On the efficiency of FES cycling: a framework and systematic review. *Technol Health Care*. 2012;20(5):395-422.

37. Davis GM, Hamzaid NA, Fornusek C. Cardiorespiratory, metabolic, and biomechanical responses during functional electrical stimulation leg exercise: health and fitness benefits. *Artif Organs*. 2008 Aug;32(8):625-9.
38. Barber L, Scicchitano BM, Musaro A. Molecular and Cellular Mechanisms of Muscle Aging and Sarcopenia and Effects of Electrical Stimulation in Seniors. *Eur J Transl Myol*. 2015 Aug 25;25(4):231-6
39. Johnston TE, Marino RJ, Oleson CV, et al. Musculoskeletal Effects of Two Functional Electrical Stimulation Cycling Paradigms Conducted at Different Cadences for People with Spinal Cord Injury: a Pilot Study. *Arch Phys Med Rehabil*. Dec 16 2015.
40. Ambrosini E, Ferrante S, Pedrocchi A, Ferrigno G, Molteni F. Cycling induced by electrical stimulation improves motor recovery in postacute hemiparetic patients: a randomized controlled trial. *Stroke*. Apr 2011;42(4):1068-1073.
41. Sadowsky CL, Hammond ER, Strohl AB, et al. Lower extremity functional electrical stimulation cycling promotes physical and functional recovery in chronic spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. Nov 2013;36(6):623-631.
42. Berry HR, Perret C, Saunders BA, et al. Cardiorespiratory and power adaptations to stimulated cycle training in paraplegia. *Med Sci Sports Exerc*. Sep 2008;40(9):1573-1580.
43. Karavidas A, Parissis JT, Matzaraki V, et al. Functional electrical stimulation is more effective in severe symptomatic heart failure patients and improves their adherence to rehabilitation programs. *J Card Fail*. Mar 2010;16(3):244-249.

44. Woods AJ, Antal A, Bikson M, Boggio PS, Brunoni AR, Celnik P, Cohen LG, Fregni F, Herrmann CS, Kappenman ES, Knotkova H, Liebetanz D, Miniussi C, Miranda PC, Paulus W, Priori A, Reato D, Stagg C, Wenderoth N, Nitsche MA. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol.* 2016 Feb;127(2):1031-48.
45. Braun R, Klein R, Walter HL, Ohren M, Freudenmacher L, Getachew K, Ladwig A, Luelling J, Neumaier B, Endepols H, Graf R, Hoehn M, Fink GR, Schroeter M, Rueger MA. Transcranial direct current stimulation accelerates recovery of function, induces neurogenesis and recruits oligodendrocyte precursors in a rat model of stroke. *Exp Neurol.* 2016 Feb 26;279:127-136
46. Meinzer M, Darkow R, Lindenberg R, Flöel A. Electrical stimulation of the motor cortex enhances treatment outcome in post-stroke aphasia. *Brain.* 2016 Feb 16. pii: aww002. [Epub ahead of print]
47. Grimaldi G, Argyropoulos GP, Bastian A, Cortes M, Davis NJ, Edwards DJ, Ferrucci R, Fregni F, Galea JM, Hamada M, Manto M, Miall RC, Morales-Quezada L, Pope PA, Priori A, Rothwell J, Tomlinson SP, Celnik P. Cerebellar Transcranial Direct Current Stimulation (ctDCS): A Novel Approach to Understanding Cerebellar Function in Health and Disease. *Neuroscientist.* 2016 Feb;22(1):83-97
48. Ferrucci R, Cortese F, Priori A. Cerebellar tDCS: how to do it. *Cerebellum.* 2015 Feb;14(1):27-30.
49. Priori A, Ciocca M, Parazzini M, Vergari M, Ferrucci R. Transcranial cerebellar direct current stimulation and transcutaneous spinal cord direct current stimulation as innovative tools for neuroscientists. *J Physiol.* 2014 Aug 15;592(16):3345-69.

50. Galea JM, Jayaram G, Ajagbe L, Celnik P. Modulation of cerebellar excitability by polarity-specific noninvasive direct current stimulation. *J Neurosci*. 2009 Jul 15;29(28):9115-22.
51. Keshner E. A. Virtual reality and physical rehabilitation: a new toy or a new research and rehabilitation tool? *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*. 2004;1, article 8
52. Holden M. K. Virtual environments for motor rehabilitation: review. *Cyberpsychology & Behavior*. 2005;8(3):187–211.
53. Udd B, Krahe R. The myotonic dystrophies: molecular, clinical, and therapeutic challenges. *Lancet Neurol*. Oct 2012;11(10):891-905.
54. Theadom A, Rodrigues M, Roxburgh R, et al. Prevalence of muscular dystrophies: a systematic literature review. *Neuroepidemiology*. 2014;43(3-4):259-268.
55. Voet NB, van der Kooi EL, Riphagen, II, Lindeman E, van Engelen BG, Geurts A. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010(1):CD003907.
56. Kierkegaard M, Harms-Ringdahl K, Edstrom L, Widen Holmqvist L, Tollback A. Feasibility and effects of a physical exercise programme in adults with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled pilot study. *J Rehabil Med*. Jul 2011;43(8):695-702.
57. Lindeman E, Leffers P, Spaans F, et al. Strength training in patients with myotonic dystrophy and hereditary motor and sensory neuropathy: a randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil*. Jul 1995;76(7):612-620.

58. Orngreen MC, Olsen DB, Vissing J. Aerobic training in patients with myotonic dystrophy type 1. *Ann Neurol*. May 2005;57(5):754-757.
59. Tollback A, Eriksson S, Wredenberg A, et al. Effects of high resistance training in patients with myotonic dystrophy. *Scand J Rehabil Med*. Mar 1999;31(1):9-16.
60. Sackley CM, Disler PB, Turner-Stokes L, Wade DT, Brittle N, Hoppitt T. WITHDRAWN: Rehabilitation interventions for foot drop in neuromuscular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2:CD003908.
61. Chisari C, Bertolucci F, Dalise S, Rossi B. Chronic muscle stimulation improves muscle function and reverts the abnormal surface EMG pattern in myotonic dystrophy: a pilot study. *J Neuroeng Rehabil*. 2013;10:94.
62. Mathieu J, Boivin H, Meunier D, Gaudreault M, Begin P. Assessment of a disease-specific muscular impairment rating scale in myotonic dystrophy. *Neurology*. Feb 13 2001;56(3):336-340.
63. Florence JM, Van Der Ploeg A, Clemens PR, Escolar DM, P. L. Use of the 6 min walk test as an endpoint in clinical trials for neuromuscular diseases. *Neuromuscular Disorders* 2008;18:738-739.
64. Kierkegaard M, Tollback A. Reliability and feasibility of the six minute walk test in subjects with myotonic dystrophy. *Neuromuscul Disord*. Dec 2007;17(11-12):943-949.
65. Mercuri E, Bushby K, Ricci E, et al. Muscle MRI findings in patients with limb girdle muscular dystrophy with calpain 3 deficiency (LGMD2A) and early contractures. *Neuromuscul Disord*. Feb 2005;15(2):164-171.

66. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioural sciences. Second ed. Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates 1988.
67. Marini M, Veicsteinas A. The exercised skeletal muscle: a review. *European Journal Translational Myology - Myology reviews* 2010;20(3):15.
68. Baskin KK, Winders BR, Olson EN. Muscle as a "mediator" of systemic metabolism. *Cell Metab.* Feb 3 2015;21(2):237-248.
69. Dubowitz V, Sewry CA. *Muscle biopsy : a practical approach.* 3rd. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
70. Ciciliot S, Rossi AC, Dyar KA, Blaauw B, Schiaffino S. Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol.* Oct 2013;45(10):2191-2199.
71. Gondin J, Brocca L, Bellinzona E, et al. Neuromuscular electrical stimulation training induces atypical adaptations of the human skeletal muscle phenotype: a functional and proteomic analysis. *J Appl Physiol* (1985). Feb 2011;110(2):433-450.
72. Hollingsworth KG, de Sousa PL, Straub V, Carlier PG. Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1-2 October 2009, Paris, France. *Neuromuscul Disord.* Oct 1 2012;22 Suppl 2:S54-67.

73. Willis TA, Hollingsworth KG, Coombs A, et al. Quantitative magnetic resonance imaging in limb-girdle muscular dystrophy 2I: a multinational cross-sectional study. *PLoS One*. 2014;9(2):e90377.
74. Iwatsu K, Yamada S, Iida Y, et al. Feasibility of neuromuscular electrical stimulation immediately after cardiovascular surgery. *Arch Phys Med Rehabil*. Jan 2015;96(1):63-68.
75. Wang YH, Meng F, Zhang Y, Xu MY, Yue SW. Full-movement neuromuscular electrical stimulation improves plantar flexor spasticity and ankle active dorsiflexion in stroke patients: A randomized controlled study. *Clin Rehabil*. 2015 Aug 20. pii: 0269215515597048. [Epub ahead of print]
76. Yaşar E, Yılmaz B, Göktepe S, Kesikburun S The effect of functional electrical stimulation cycling on late functional improvement in patients with chronic incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2015 Dec;53(12):866-9.
77. Hultborn H, Illert M, Nielsen J, Paul A, Ballegaard M, Wiese H. On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects. *Exp Brain Res*. 1996 Mar;108(3):450-62.
78. Grey MJ, Klinge K, Crone C, Lorentzen J, Biering-Sørensen F, Ravnborg M, Nielsen JB. Post-activation depression of soleus stretch reflexes in healthy and spastic humans. *Exp Brain Res*. 2008 Feb;185(2):189-97.
79. Trompetto C, Marinelli L, Mori L, Cossu E, Zilioli R, Simonini M, Abbruzzese G, Baratto L. Postactivation depression changes after robotic-assisted gait training in hemiplegic stroke patients. *Gait Posture*. 2013 Sep;38(4):729-33.

80. Marsden J, Stevenson V, McFadden C, Swain I, Taylor P. The effects of functional electrical stimulation on walking in hereditary and spontaneous spastic paraparesis. *Neuromodulation*. 2013 May-Jun;16(3):256-60
81. Pozzi NG, Minafra B, Zangaglia R, De Marzi R, Sandrini G, Priori A, Pacchetti C. Transcranial direct current stimulation (tDCS) of the cortical motor areas in three cases of cerebellar ataxia. *Cerebellum*. 2014 Feb;13(1):109-12
82. Benussi A, Koch G, Cotelli M, Padovani A, Borroni B. Cerebellar transcranial direct current stimulation in patients with ataxia: A double-blind, randomized, sham-controlled study. *Mov Disord*. 2015 Oct;30(12):1701-5.