

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE SPECIALISTICHE**

Ciclo XXVII

Settore Concorsuale di afferenza: 06/d6

Settore Scientifico disciplinare: MED26

**CARATTERIZZAZIONE DEI SINTOMI NEUROVEGETATIVI E
NEUROPSICOLOGICI NELLA MALATTIA DI PARKINSON
ASSOCIATA A MUTAZIONI DEL GENE GLUCOCEREBROSIDASI**

Presentata da: Dott. Francesca Eddi Alice Del Sorbo

Coordinatore Dottorato

Prof. Roberto Di Bartolomeo

Relatore

Prof. Pietro Cortelli

Correlatori

Prof. Alberto Albanese

Dott. Antonio Elia

Esame finale anno 2015

Sommario

INTRODUZIONE	5
La malattia di Parkinson idiopatica	5
Definizione e classificazione.....	5
Eziologia	8
Le caratteristiche cliniche	9
I parkinsonismi monogenici	10
La disautonomia.....	16
Le caratteristiche cliniche	16
Le indagini utili nella valutazione del sistema nervoso autonomo.....	18
La disautonomia nelle sindromi parkinsoniane	25
La disautonomia primaria cronica.....	25
La disautonomia nei parkinsonismi genetici.....	28
Il declino cognitivo e la disautonomia nella malattia di Parkinson.....	34
La malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene glucocerebrosidasi (GBA)	36
STUDIO SPERIMENTALE	39
Obiettivi dello studio.....	39
Materiali e metodi	41
Studio clinico prospettico cross sectional.....	41
Criteri di inclusione e di esclusione.....	41
Analisi genetico-molecolare.....	43
Protocollo di valutazione del sistema nervoso autonomo	43
Protocollo di valutazione delle funzioni cognitive e comportamentali	45
Analisi statistica.....	46
Risultati	47
Pazienti portatori di mutazione del gene GBA.....	47
Studio del sistema nervoso autonomo	48
Studio delle funzioni cognitivo-comportamentali	55
Discussione.....	62
Conclusioni	66
Bibliografia	67

Alle persone che amo,

Il mio compagno Alessandro e Cristiana

I miei nipoti Matteo e Francesco e il loro papà Gabriele

I miei genitori Antonio e Lia

I miei zii Elvio, Benedetta e Matilde

La mia seconda famiglia Gian Paolo, Giada e Rosalba

La mia amica Daniela

E ai miei pazienti

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

AD, autosomico dominante

AR, autosomico recessivo

DAs, dopamino agonisti

DJ1, oncogene DJ-1

FC, frequenza cardiaca

GBA, glucosidase beta acid

HTRA2, HTRA serine proteasi 2

LEDD, levodopa equivalenti

LRRK2, leucine-rich repeat kinase 2

MOCA, Montreal Cognitive Assessment

NR4A2, nuclear receptor subfamily 4 group A member 2

PA, pressione arteriosa

PINK1, PTEN-induced putative kinase 1

SCOPA-AUT, Scales for Outcomes in PD-Autonomic

SNCA, alpha-synuclein

STAI, State-Trait Anxiety Inventory

STN DBS, neurostimolazione cerebrale profonda nel nucleo subtalamico

QUIP-RS, Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson Disease-Rating Scale

UCHL1, ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1

Δ , variazione

INTRODUZIONE

La malattia di Parkinson idiopatica

Definizione e classificazione

Le prime osservazioni della malattia di Parkinson risalgono al 1817 quando James Parkinson pubblicò la monografia 'An essay on the shaking palsy'. James Parkinson ha per primo descritto in maniera unitaria molti dei sintomi della malattia, quali rigidità, tremore e bradicinesia, coniando il termine 'paralisi agitante' ('shaking palsy'). Le osservazioni cliniche di Parkinson sono state poi ampliate, alla fine del secolo scorso, da Trousseau, Charcot e Brissaud che hanno descritto in dettaglio le caratteristiche cliniche di questa malattia.

La malattia di Parkinson idiopatica è la seconda malattia neurodegenerativa più comune dopo la malattia di Alzheimer, e la sua prevalenza aumenta con l'età: da circa l' 1% nella popolazione di età superiore ai 60 anni a circa il 4% oltre gli 85 anni [de Lau and Breteler 2006]. La malattia di Parkinson è caratterizzata clinicamente da una triade di segni clinici (tremore a riposo, bradicinesia e rigidità muscolare), cui si associa l'instabilità posturale. Caratteristiche cliniche aggiuntive sono alterazioni della postura, disautonomia, disturbi sensitivi e demenza.

Il quadro clinico consegue a una marcata degenerazione dei neuroni dopaminergici della parte compatta della sostanza nera nel mesencefalo ventrale, e di altri nuclei pigmentati troncoencefalici, come il locus coeruleus ed il nucleo motore dorsale del vago. A livello neuropatologico, un elemento patognomonico è il riscontro di tipiche inclusioni citoplasmatiche eosinofile all'interno dei neuroni dopaminergici residui. Queste inclusioni, i cosiddetti corpi di Lewy, sono costituiti principalmente da aggregati proteici di alpha-sinucleina [Pollanen *et al.* 1993] [Braak *et al.* 2003].

Nonostante il picco maggiore di incidenza della malattia di Parkinson si verifichi nella settima decade di vita, il range di età di esordio è estremamente variabile, dalla seconda-terza decade in poi. Queste forme ad esordio precoce (prima dei 40-45 anni di età) sono più rare delle forme ad esordio tardivo (oltre i 60 anni di età) e possono presentare, in aggiunta ai segni neurologici tipici, alcune peculiarità cliniche aggiuntive,

come una progressione molto lenta dei sintomi, un'eccellente risposta alla terapia dopaminergica, fluttuazioni diurne della sintomatologia con beneficio da sonno, la presenza di distonia all'esordio, ipereccitabilità dei riflessi osteotendinei.

In vita la diagnosi di malattia di Parkinson resta tuttora clinica [Gelb *et al.* 1999], poiché non esistono marcatori biologici o strumentali specifici. In assenza di una conferma autoptica, quindi, la diagnosi clinica è di probabilità. L'adozione dei criteri clinici si è dimostrata insufficiente nell'accuratezza diagnostica infatti comporta, alla conferma autoptica, una sensibilità del 65%, una specificità del 71% ed un valore predittivo positivo dell'88% [Hughes *et al.* 1992].

Solo tramite tecniche di neuroimmagini funzionali, come la tomografia ad emissione di positroni (PET) o la tomografia ad emissione di singoli fotoni (SPECT), utilizzando traccianti dopaminergici presinaptici, è possibile evidenziare in vivo l'entità della perdita dei neuroni dopaminergici con una elevata sensibilità, che non raggiunge però il 100% [Benamer *et al.* 2000].

La malattia di Parkinson è solo la più frequente tra le numerose cause di parkinsonismo. Numerose altre patologie, genetiche e non genetiche, sono caratterizzate dalla presenza di segni clinici parkinsoniani; tali patologie sono dette 'sindromi parkinsoniane'. Tutte le sindromi parkinsoniane degenerative sono associate a perdita dei neuroni dopaminergici nella sostanza nera, e possono presentare o meno, a livello anatomopatologico, i corpi di Lewy. Le forme primarie comprendono la malattia di Parkinson e i parkinsonismi monogenici. Le forme plus comprendono malattie neurodegenerative caratterizzate dalla presenza di sintomi parkinsoniani accanto ad altri segni clinici di degenerazione del sistema nervoso centrale (Tabella 1).

Tabella 1. Classificazione delle sindromi parkinsoniane.

<p>Parkinsonismi primari</p> <ul style="list-style-type: none">• Malattia di Parkinson idiopatica• Parkinsonismi monogenici <p>Parkinsonismi-plus</p> <p><i>Forme sporadiche</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Paralisi sopranucleare progressiva• Degenerazione corticobasale• Complesso parkinson-demenza-sclerosi laterale amiotrofica di Guam• Malattia di Alzheimer• Malattia da corpi di Lewy diffusi• Atrofia multisistemica <p><i>Forme ereditarie</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Malattia di Wilson• Atassia spinocerebellare autosomica dominante (SCA2, SCA3, SCA6)• Malattia di Hallervorden-Spatz• Malattia di Huntington (variante di Westphal)• Demenza fronto-temporale (FTDP-17)• Neuroacantocitosi• Mitocondriopatie• Distonia-parkinsonismo X-linked• Distonia responsiva alla levodopa (dopa-responsive-dystonia, DRD)• Malattia di Gerstmann-Straussler-Scheinker• Ceroidlipofuscinosi• Emocromatosi ereditaria <p>Parkinsonismi secondari</p> <ul style="list-style-type: none">• A farmaci (fenotiazine, butirrofenoni, metoclopramide, tetrabenazina, α-metildopa, calcio-antagonisti, litio etc.)• A sostanze tossiche (MPTP, monossido di carbonio, disolfuro di carbonio, acido cianidrico, manganese, mercurio, metanolo, etanolo, esano, etc.)• Ad agenti infettivi (panencefalite subacuta sclerosante, encefalite letargica, encefalite da HIV, Malattia di Creutzfeldt-Jacob, Malattia di Whipple, etc.)• A danno metabolico (ipossia, ipoparatiroidismo, etc.)• A danno strutturale (tumore cerebrale, trauma cranico, idrocefalo normoteso, encefalopatia vascolare)• Psicogeno

Eziologia

L'eziologia della malattia di Parkinson è tuttora sconosciuta. La scoperta che l'MPTP è capace di causare un parkinsonismo nell'uomo simile alla malattia idiopatica, ha fatto ipotizzare all'inizio degli anni ottanta, che l'esposizione cronica a fattori tossici ambientali potesse giocare un ruolo fondamentale nella degenerazione progressiva dei neuroni pigmentati del troncoencefalo. Malgrado questi presupposti teorici, nessun fattore ambientale è emerso finora come associato in maniera chiara con la malattia di Parkinson, anche se alcuni studi hanno indicato un possibile ruolo della crescita in ambiente rurale [Barbeau *et al.* 1986].

Un numero sempre più crescente di dati sperimentali sta dimostrando che un'alterazione della funzione mitocondriale rappresenta un momento fondamentale nella patogenesi della malattia di Parkinson. I mitocondri svolgono un ruolo chiave nella sopravvivenza cellulare. Già da oltre venti anni è stata dimostrata una ridotta attività del complesso mitocondriale nella sostanza nera di pazienti con malattia di Parkinson. Una delle possibili cause della disfunzione mitocondriale è un elevato livello di stress ossidativo che può essere indotto dalla presenza di radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno. Infatti, numerosi studi hanno dimostrato elevati livelli di stress ossidativo nella sostanza nera dei pazienti con malattia di Parkinson. I neuroni dopaminergici sono particolarmente vulnerabili a condizioni di stress ossidativo, in quanto il processo di autoossidazione della dopamina, genera derivati tossici quali dopamina-chinone, perossido di idrogeno e radicali superossido che vengono trasformati in radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno. Lo stress ossidativo è un'importante fonte di danno cellulare, sia per i suoi effetti sui lipidi (la perossidazione lipidica comporta alterazione delle membrane e ulteriore rilascio di dopamina), che per i suoi effetti sulle proteine (come per esempio l' α -sinucleina) con aumentata formazione di protofibrille e di aggregati tossici.

L'identificazione di geni responsabili di forme di malattia di Parkinson ha rappresentato un importante avanzamento nelle conoscenze sui meccanismi patogenetici di degenerazione dei neuroni dopaminergici. Gli studi sull' α -sinucleina hanno rappresentato un momento fondamentale della ricerca sulla malattia di Parkinson. Infatti, l' α -sinucleina è la proteina maggiormente rappresentata nei corpi di Lewy di

pazienti con la forma idiopatica di malattia di Parkinson e ha un ruolo cruciale nella patogenesi della malattia, mentre il ruolo fisiologico non è ancora definito chiaramente. Verosimilmente, l' α -sinucleina svolge un'importante funzione regolatoria sulla trasmissione sinaptica, regolando il rilascio ed il reuptake della dopamina. Tuttavia, l'importanza dell' α -sinucleina nella malattia di Parkinson dipende dalla sua tendenza ad acquisire una struttura secondaria anomala e a oligomerizzare, creando protofibrille e fibrille che precipitano nel citoplasma delle cellule dopaminergici sotto forma di aggregati proteici. Le proteine malripiegate risultano dannose per le cellule, che solitamente mettono in atto meccanismi protettivi per riconoscerle ed eliminarle. Uno di questi è rappresentato dal complesso ubiquitina-proteasoma che permette di riconoscere le proteine target e di identificarle mediante l'attacco di una coda di molecole di ubiquitina. La coda di poliubiquitine comporta l'internalizzazione delle proteine target in una struttura multiproteica deputata alla loro degradazione, il proteasoma. Il prodotto del gene parkina è un enzima con attività ubiquitin-ligasica, uno dei tre componenti del sistema di riconoscimento e ubiquitinazione di proteine target destinate a essere degradate. La mancata funzione dell'ubiquitin-ligasi, dovuta a mutazioni nel gene parkina, porta a un malfunzionamento della via ubiquitina-proteasoma, con conseguente accumulo di proteine anomale ed effetto tossico sulla cellula. Interrogativi ancora irrisolti, sono come si espletati l'effetto tossico degli aggregati proteici intracellulari, come mai gli aggregati proteici si formino anche in pazienti con malattia di Parkinson sporadica in assenza di mutazioni parkina e l' α -sinucleina e quale funzione svolgono gli altri geni identificati, PINK1, DJ1, dardarina, VPS35 e EIF4G1.

[Le caratteristiche cliniche](#)

Sebbene i segni parkinsoniani compaiano in seguito ad una perdita significativa dei neuroni dopaminergici della parte compatta della sostanza nera, recenti studi di Braak e Braak suggeriscono che la MP diventi clinicamente manifesta solo dopo che la degenerazione 'extranigrale' abbia raggiunto uno stadio piuttosto avanzato [Braak, Del, Rub, de Vos, Jansen Steur, and Braak2003]. Secondo Braak e Braak, le prime alterazioni degenerative iniziano nel nucleo anteriore e nel nucleo motore dorsale del vago e nei nervi glossofaringei. Il coinvolgimento ascendente del tronco si estenderebbe attraverso le connessioni anatomiche ai nuclei del rafe, al complesso

coeruleo-subcoeruleo, alla parte compatta della sostanza nera, ai nuclei magnocellulari del diencefalo ed, eventualmente, ai nuclei del talamo, all'amigdala, al locus coeruleus e, nei casi avanzati, anche alla corteccia cerebrale. Le caratteristiche cliniche cardinali motorie della MP sono il tremore, la bradicinesia, la rigidità e, più tardivamente nel corso della malattia, le alterazioni dei riflessi posturali, disturbi che possono essere spiegati dalla degenerazione di specifiche regioni laterali della parte compatta della sostanza nera e dalla precoce deplezione di dopamina relativamente selettiva a livello del putamen [Gelb, Oliver, and Gilman1999].

Sebbene la diagnosi clinica di MP si basa sulla identificazione delle caratteristiche motorie sopra descritte, tuttavia i sintomi non-motori nella MP sono a volte presenti prima della diagnosi e quasi inevitabilmente emergono con la progressione della malattia. In effetti, i sintomi non-motori dominano il quadro clinico della MP avanzata e contribuiscono a grave disabilità, ridotta qualità della vita, e ridotta aspettativa di vita [Chaudhuri *et al.* 2005]. I sintomi non-motori che comprendono la depressione, l'ansia, il decadimento cognitivo, la disautonomia, il dolore, i disturbi sensitivi e i disturbi del sonno, possono risultare da un processo degenerativo 'extranigrale' [Chaudhuri, Yates, and Martinez-Martin2005].

I parkinsonismi monogenici

La maggior parte dei casi di malattia di Parkinson sono sporadici ed il possibile ruolo di fattori genetici nella patogenesi della malattia è stato lungamente dibattuto. Sebbene inizialmente si riteneva che la tale malattia fosse causata da fattori ambientali (tossici, infettivi, etc), l'osservazione di una storia familiare positiva nel 10-20% dei pazienti suggerisce da tempo il coinvolgimento di fattori genetici nella patogenesi della malattia.

Nonostante già alla fine dell'ottocento Charcot avesse descritto la presenza di aggregazione familiare, l'ipotesi genetica ha acquistato una rilevanza significativa solo a partire dal 1990, con la descrizione della prima famiglia in cui la malattia segregava chiaramente con modalità autonoma dominante. Grazie alla famiglia di Contursi (dall'omonimo paese della Campania) è stata possibile la mappatura e la successiva identificazione, nel 1997, del primo gene responsabile di una forma mendeliana, cioè monogenica di malattia di Parkinson, il gene dell'alpha-sinucleina. La scoperta di

mutazioni in questo gene ha spianato la strada alla comprensione delle basi genetiche della malattia di Parkinson. Nell'ultimo decennio la ricerca ha portato all'identificazione di numerosi geni mendeliani responsabili di malattia di Parkinson a trasmissione autosomica dominante ed autosomica recessiva, oltre a numerosi geni e loci di 'susceptibilità' allo sviluppo della malattia. Queste scoperte hanno rivoluzionato l'approccio al paziente con malattia di Parkinson, rappresentando da una parte un enorme passo avanti nella comprensione dei meccanismi patogenetici della neurodegenerazione aprendo nuove prospettive terapeutiche e neuroprotettive, e dall'altra fornendo utili strumenti per la consulenza genetica e la diagnosi molecolare nei casi familiari (e sporadici) di malattia di Parkinson [Gasser 2007]. Lo stato delle conoscenze sulla genetica delle forme di malattia di Parkinson è riassunto in tabella 2.

Al momento sono conosciuti quattro geni chiaramente implicati nella malattia di Parkinson a trasmissione autosomica dominante, il gene SNCA/, PARK1-PARK4, il gene LRRK2/ PARK8, il gene VPS35/PARK17 e il gene EIF4G1/PARK18.

Mutazioni puntiformi del **gene SNCA** rappresentano una causa estremamente rara di malattia di Parkinson e sinora soltanto tre mutazioni sono state descritte in un numero esiguo di casi familiari ed in nessun caso sporadico. Un secondo meccanismo mutazionale è rappresentato dalle duplicazioni o triplicazioni dell'intero gene SNCA. Infatti è stato dimostrato che, pur in assenza di mutazioni, l'iper-espressione dell'alpha-sinucleina rappresenta un importante meccanismo patogenetico di neurodegenerazione. Il sospetto diagnostico di mutazioni o alterazioni numeriche di questo gene può insorgere in presenza di casi familiari di malattia di Parkinson con trasmissione autosomica dominante, esordio nella quinta–sesta decade di vita e progressione tendenzialmente rapida della malattia. In particolare, la triplicazione del gene è associata ad un esordio ancora più precoce (anche nella quarta decade), progressione molto rapida e frequente associazione con deterioramento cognitivo, demenza, disturbi autonomici e psichiatrici. Le duplicazioni del gene non sono invece distinguibili dalla malattia di Parkinson idiopatica per quanto riguarda età d'esordio, quadro clinico e progressione [Farrer *et al.* 2004].

Il **gene LRRK2**, recentemente identificato, è particolarmente interessante in quanto una singola mutazione (G2019S) [Di Fonzo A. *et al.* 2005] è stata identificata come

responsabile nella popolazione caucasica di circa il 2% dei casi di malattia di Parkinson sporadica e fino all'8% dei casi familiari di malattia di Parkinson, rappresentando al momento la causa genetica più frequente di malattia di Parkinson a livello mondiale, pur con frequenza variabile in popolazioni diverse [Nichols *et al.* 2005]. Infatti, in alcune popolazioni (come gli Ebrei Aschenaziti e le popolazioni nordafricane), la mutazione G2019S è responsabile di oltre il 40% dei casi familiari di malattia di Parkinson. Altre mutazioni del gene *LRRK2* sono state identificate ma sono estremamente più rare. Il quadro clinico associato a mutazioni di *LRRK2* è sostanzialmente indistinguibile dalla malattia sporadica, senza caratteristiche atipiche, mentre l'età d'esordio è estremamente variabile, con un ampio intervallo tra la quarta e l'ottava decade di vita. La penetranza è ridotta in maniera correlata all'età, e cresce progressivamente con il passare degli anni, da circa il 20% attorno ai 50 anni di età a oltre l'85% a 70 anni. Tuttavia sono stati descritti portatori sani di oltre ottanta anni, in quanto la penetranza rimane comunque inferiore al 100% anche in età molto avanzata.

Mentre il parkinsonismo associato ai geni *SNCA* e *LRRK2* è ben caratterizzato, i dati disponibili per i geni **VPS35** e **EIF4G1** sono ancora scarsi poiché sono stati descritti per la prima volta pochi anni fa [Wider *et al.* 2008] [Chartier-Harlin *et al.* 2011]. Mutazioni dominanti nei geni *VPS35* e *EIF4G1* sono una causa molto rara di malattia di Parkinson, con frequenza stimata rispettivamente dello 0,1% e 0,02-0,2%. Questi due geni determinano un parkinsonismo con caratteristiche cliniche simili alla malattia di Parkinson idiopatica e esordio in età adulta.

Al contrario delle forme dominanti, quelle a trasmissione recessiva sono più frequenti, soprattutto nell'ambito della malattia di Parkinson ad esordio precoce (< 40-45 anni di età). Tuttavia, mutazioni in tali geni possono essere talora responsabili di quadri clinici ad esordio più tardivo. Per quanto riguarda le forme recessive, sono stati identificati tre geni responsabili della malattia: il gene *parkina*, il gene *DJ1* e il gene *PINK1*.

Lo studio di numerose famiglie consanguinee giapponesi affette da una forma particolarmente precoce di malattia di Parkinson, ha portato all'identificazione del primo gene recessivo, il **gene parkina** [Kitada *et al.* 1998]. Sono state identificate nel tempo numerose mutazioni, che sono distribuite lungo tutto il gene e comprendono

sia mutazioni puntiformi (missenso o troncanti) che riarrangiamenti genici (delezioni o moltiplicazioni di uno o più esoni). I molteplici studi successivi alla scoperta del gene parkina, hanno dimostrato che mutazioni nel gene parkina sono responsabili di quasi la metà dei casi familiari e di circa il 10-15% dei casi sporadici di malattia di Parkinson ad esordio precoce. Si tratta quindi di un gene numericamente importante soprattutto per le forme ad esordio precoce, che spesso sono clinicamente distinguibili dalla malattia di Parkinson sporadica per la presenza di caratteristiche fenotipiche aggiuntive. Al contrario, il gene parkina gioca un ruolo minore in quei pazienti con età di esordio nella quarta-quinta decade. Il fenotipo clinico è peculiare: l'età di esordio è molto precoce, in media intorno a 35 anni in Europa (25 anni in Giappone), i sintomi parkinsoniani tipici sono frequentemente associati ad accentuazione dei riflessi osteotendinei ed alla presenza di distonia dell'arto inferiore all'esordio [Lucking *et al.* 2000]. La risposta alla levodopa è eccellente, con sviluppo frequente e precoce di fluttuazioni motorie e discinesie. Caratteristiche sono le fluttuazioni diurne della sintomatologia con beneficio da sonno. Il decorso è tipicamente molto lento. La neuropatologia della malattia da parkina, studiata finora solo in pochi casi, sembra caratterizzata da perdita di neuroni e gliosi a livello della sostanza nera e del locus coeruleus, più selettiva rispetto alla MP, e solitamente associata ad assenza di corpi di Lewy. Tuttavia, sono stati descritti rari casi con riscontro neuropatologico di corpi di Lewy o aggregati neurofibrillari simili a quelli osservati nelle taupatie. Le cause di tale variabilità sono ancora da chiarire.

L'identificazione di tre geni responsabili di malattia di Parkinson recessiva a esordio precoce, ha dato il via a numerosi studi su casistiche molto ampie di pazienti, anche con forme sporadiche di malattia di Parkinson. Questi studi hanno fatto emergere un dato molto importante, ovvero l'identificazione di singole mutazioni in eterozigosi in casi sporadici con esordio sia precoce che tardivo. In circa il 50% dei pazienti parkina-positivi e nel 75% dei pazienti PINK1-positivi, l'analisi mutazionale identifica soltanto una mutazione in eterozigosi. Le mutazioni in eterozigosi sono talvolta riscontrate anche in individui sani (ad esempio familiari di pazienti portatori di doppia mutazione) ed il loro significato non è tuttora chiaro. Infatti, il riscontro di queste mutazioni nei pazienti con malattia di Parkinson potrebbe essere del tutto casuale e non correlato alla malattia, oppure potrebbe esistere una seconda mutazione, non identificabile con

le tecniche correnti di analisi molecolare. Una ipotesi alternativa, è che tali mutazioni in eterozigosi possano rappresentare un fattore di suscettibilità a sviluppare la malattia di Parkinson, in presenza di altri fattori genetici ed ambientali predisponenti. In tal caso, soltanto alcuni portatori di tali mutazioni svilupperebbero la malattia nel corso della vita

Il gene DJ1, sembra rappresentare una causa molo rara di malattia di Parkinson con una frequenza di mutazioni che si avvicina all'1%, sia nei casi familiari che sporadici [Abou-Sleiman *et al.* 2003]. Mutazioni nel gene DJ1 sono state riscontrate in pazienti con esordio molto precoce della malattia, lenta progressione, e caratteristiche cliniche tipiche (tremore a riposo, bradicinesia, perdita dei riflessi posturali ed esordio asimmetrico de sintomi motori), in aggiunta alle quali sono stati descritti sintomi psichiatrici, con presenza di episodi psicotici [van Duijn *et al.* 2001].

Il gruppo di ricerca di Enza Maria Valente, ha recentemente identificato il terzo gene responsabile della malattia di Parkinson ad esordio precoce, il **gene PINK1** [Valente *et al.* 2001]. Mutazioni in questo gene sono state inizialmente identificate in tre ampie famiglie consanguinee, due italiane e una spagnola, con numerosi individui affetti nella stessa generazione. Il quadro clinico associato a mutazioni di PINK1 è simile a quello della malattia idiopatica a insorgenza tardiva, con incidenza molto bassa di caratteristiche atipiche ed età di esordio tendenzialmente più alta rispetto ai casi dovuti a mutazione degli altri due geni recessivi conosciuti [Albanese *et al.* 2005a].

Più recentemente, sono stati scoperti importanti fattori di rischio genetici per la malattia di Parkinson, cioè varianti genetiche non sufficienti a causare la malattia ma che, se presenti, aumentano notevolmente il rischio di ammalare (anche fino a 5-6 volte tanto rispetto ai non portatori) [Spatola and Wider 2014]. Tali fattori di rischio genetici comprendono varianti polimorfiche in numerosi geni e mutazioni in eterozigosi in geni solitamente non causativi di malattia di Parkinson, come il gene della beta-glucocerebrosidasi (GBA, OMIM #230800) che può essere associato a malattia di Parkinson (la malattia di Parkinson associata a mutazione GBA è trattata in un successivo paragrafo).

Tabella 2. Principali loci e geni implicati nelle forme genetiche di malattia di Parkinson.

Locus	Cromosoma	Gene	Trasmissione
PARK1/4	4q21-q23	SNCA	AD
PARK2	6q25-q27	Parkin	AR
PARK3	2p13	*	AD
PARK5	4p14	UCHL1	AD
PARK6	1p35-p36	PINK1	AR
PARK7	1p36	DJ1	AR
PARK8	12p11-q13	LRRK2/dardarin	AD
PARK9	1p36	ATP13A2	AR
PARK10	1p32	*	Locus di suscettibilità
PARK11	2q36-q37	*	Locus di suscettibilità
PARK12	Xq21-q25	*	X-linked
PARK13	2p12	HTRA2	*
PARK14	22q13	PLA2G6	AR
PARK15	22q12	FBXO7	AR
PARK16	1q32	*	*
PARK 17	16q12	VPS35	AD
PARK18	3q27	EIF4G1	AD
	1q21	GBA	AR

Abbreviazioni: SNCA, alpha-synuclein; UCHL1, ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1; PINK1, PTEN-induced putative kinase 1; DJ1, oncogene DJ-1; LRRK2, leucine-rich repeat kinase 2; HTRA2, HTRA serine proteasi 2; NR4A2, nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2; AD, autosomico dominante; AR, autosomico recessivo.

*: non noto/a.

La disautonomia

Nel diciannovesimo secolo, Langley (Langley, 1989) coniò il termine 'sistema nervoso autonomo' per denotare quella parte di sistema nervoso in gran parte responsabile delle funzioni involontarie degli organi interni, in opposizione con il sistema nervoso responsabile delle funzioni volontarie dei muscoli scheletrici. Langley introdusse anche il termine 'sistema nervoso parasimpatico' ('parasympathetic nervous system'), per indicare le porzioni craniali tronco encefaliche e sacrali del sistema nervoso autonomo, a differenza del sistema nervoso simpatico che origina dai gangli toracolombari. L'attività di questi due sistemi, simpatico e parasimpatico, che rappresentano l'efferenza del sistema nervoso autonomo, è integrata dalle afferenze sensitive viscerali (nucleo del tratto solitario), dall'ipotalamo e dalle strutture corticali (sistema limbico). I due sistemi, svolgendo azioni integrate e cooperative, consentono risposte rapide ed efficaci in grado di mantenere l'omeostasi interna.

Il concetto di disautonomia, termine che si riferisce ad una alterazione del sistema nervoso autonomo, è relativamente nuovo nella clinica medica. Recentemente Goldstein ha definito la disautonomia come una sindrome clinica in cui modificazioni nell'attività del sistema nervoso autonomo compromettono la salute [Goldstein *et al.* 2002]. La sintomatologia è determinata da disfunzioni delle varie sezioni del SNA, quali il simpatico noradrenergico, il simpatico colinergico, il parasimpatico colinergico e l'enterico. L'integrità del sistema nervoso autonomo è indispensabile per tollerare anche le condizioni di non emergenza, quali il mantenimento dell'ortostatismo. L'intolleranza ortostatica è, infatti, considerata una manifestazione clinica cardinale della insufficienza neurocircolatoria simpatica.

Le caratteristiche cliniche

Il sistema nervoso autonomo mantiene l'omeostasi interna attraverso la regolazione delle funzioni cardiovascolare, pilomotoria, sudoripara, respiratoria, genito-urinaria, gastro-intestinale e pupillare. L'alterazione delle differenti componenti del sistema nervoso autonomo (enterico, parasimpatico colinergico, simpatico colinergico, simpatico noradrenergico e simpatico adreno-midollare), si manifesta clinicamente con sintomi correlati alla disfunzione degli organi da esso innervati.

I sintomi cardiovascolari sono correlati alla presenza di ipotensione ortostatica, condizione definita dal Consensus Committee dell'American Autonomic Society e dell'American Academy of Neurology, come la riduzione della pressione arteriosa sistolica di almeno 20 mmHg o di quella diastolica di almeno 10 mmHg entro 3 minuti dall'assunzione della stazione eretta [Freeman *et al.* 2011]. In particolare, sono presenti disturbi relativi ad ipoperfusione cerebrale quali comparsa di ipovisus o capogiri al passaggio dal clinostatismo all'ortostatismo, fino alla manifestazione di episodi sincopali; aggravamento della ipotensione ortostatica correlata all'assunzione di cibo, alle elevate temperature o a sforzi fisici; dolore suboccipitale e paracervicale che si manifesta col mantenimento dell'ortostatismo prolungato, dovuto a ipoperfusione dei muscoli di tali distretti. Un altro dato clinico molto importante nella insufficienza neurogena cardiocircolatoria è la tendenza a sviluppare una ipertensione clinostatica con rischio di eventi acuti cardio-cerebrovascolari durante il sonno. I meccanismi responsabili dell'ipertensione clinostatica includono l'alterazione del riflesso barorecettoriale, la 'supersensibilità' di vasi parzialmente denervati in presenza anche di quantità modeste di noradrenalina, l'incremento del volume di sangue centrale dovuto al passaggio di fluidi dal compartimento periferico, e l'eventuale effetto dei farmaci usati per trattare l'ipotensione ortostatica [Mathias 2003].

I sintomi urinari possono essere l'espressione di una iperreflessia detrusoriale, e ciò si traduce in situazioni di incontinenza urinaria, di aumentata frequenza minzionale e di urgenza minzionale. In presenza di una dissinergia vescico-sfinterica, sarà presente una difficoltà ad urinare con incompleto svuotamento vescicale fino alla ritenzione urinaria con necessità di praticare cateterismi intermittenti o cateterizzazione permanente.

L'alterato controllo autonomico del sistema gastrointestinale può determinare difficoltà del transito gastro-intestinale. Sintomo comune è la stipsi cronica nelle sue due forme, da rallentato transito e da dissinergia del pavimento pelvico, che può portare anche a quadri di sub-occlusione intestinale. Al contrario, la disautonomia gastro-intestinale può essere caratterizzata da alvo diarroico o dalla coesistenza di stipsi e diarrea, condizione che caratterizza il cosiddetto alvo alternante. Sintomi di disautonomia di questo sistema sono anche la disfagia, la scialorrea o l'acalasia.

Negli uomini, l'alterazione della funzione sessuale può determinare disturbi di erezione fino all'impotenza erigendi, dipendenti da una disfunzione del sistema parasimpatico; disturbi dell'eiaculazione sono invece dovuti ad una alterazione del sistema simpatico. Può essere inoltre presente eiaculazione retrograda, soprattutto in concomitanza con alterazioni dello sfintere urinario.

Altri sintomi di disautonomia possono essere correlati ad una alterazione della funzione pupillare, con presenza di disturbi di accomodazione e irregolarità pupillari, alterazione della lacrimazione e alterazione della sudorazione.

Disturbi della funzione respiratoria comprendono le apnee ostruttive, le apnee centrali, l'alterazione della frequenza respiratoria, l'esordio o il peggioramento del russamento. Disturbi del sonno sono caratterizzati da insonnia, ipersonnia, disturbi comportamentali del sonno REM (rapid eyes movement). Lo spettro dei disturbi del respiro correlati al sonno include le apnee, l'ipoventilazione, il respiro di Cheyne-Stokes, il respiro periodico e lo stridore respiratorio notturno.

Le indagini utili nella valutazione del sistema nervoso autonomo

Le indagini di laboratorio hanno principalmente lo scopo di studiare l'integrità o meno della funzione autonoma e, se l'alterazione è presente, di quantificare il grado di compromissione, di determinare il livello lesionale (pre- o post-sinaptico) e di rilevare il rapporto di efficienza fra le due vie efferenti, simpatica e parasimpatica, inoltre di determinare se si tratta di una disautonomia primaria o secondaria, poiché questo comporta approcci diagnostici e strategie terapeutiche differenti, oltre che prognosi differenti.

Sono disponibili indagini che valutano i diversi apparati controllati dal sistema nervoso autonomo, ovvero l'apparato cardiovascolare, genito-urinario, gastro-intestinale, respiratorio, sudomotorio e oculare (Tabella 3), ma i test cardiovascolari sono generalmente usati come primo approccio sia per il più frequente coinvolgimento del cuore e dei vasi nella disautonomia, sia perché sono test ben standardizzati e caratterizzati da buona sensibilità e specificità, di semplice esecuzione, facilmente interpretabili, ben riproducibili (coefficiente di variazione intorno al 20%), non invasivi e con buon rapporto costo-beneficio [1996].

Test di valutazione della funzione autonoma cardiovascolare

Il sistema nervoso autonomo svolge un ruolo importante nella regolazione dell'omeostasi cardiovascolare, controllando l'attività cardiaca ed il tono vasomotore. L'integrità dei riflessi cardiovascolari deriva dalla normale attività dei centri soprasspinali, del midollo spinale, delle strutture periferiche (barorecettori, chemorecettori, meccanorecettori, fibre nervose parasimpatiche e ortosimpatiche). Il sistema nervoso simpatico agisce a livello cardiovascolare direttamente attraverso fibre efferenti noradrenergiche ed indirettamente attraverso l'adrenalina liberata dalla midollare del surrene per stimolazione da parte di fibre simpatiche, attraverso i recettori adrenergici α_1 , α_2 e β_2 . Il sistema nervoso parasimpatico agisce a livello cardiovascolare attraverso fibre efferenti colinergiche. Le fibre simpatiche e parasimpatiche innervano gli atri, i ventricoli, le arterie coronariche ed i vasi di resistenza della circolazione periferica. L'attività del sistema simpatico incrementa la frequenza cardiaca, incrementa la contrattilità del miocardio, dilata i vasi coronarici e costringe i vasi di resistenza; il sistema parasimpatico agisce in modo opposto ad eccezione di una minima azione sui vasi periferici. Le afferenze originano a livello dei barorecettori arteriosi localizzati nel seno carotideo, nell'arco aortico, nelle arterie toraciche e a livello di meccanorecettori cardiaci e recettori polmonari di stiramento. La regolazione avviene attraverso un sistema di feedback negativo. Un incremento dell'attività del sistema afferente, determina una ridotta attività delle efferenze simpatiche e/o una aumentata attività delle efferenze parasimpatiche e viceversa. Per esempio, un aumento della pressione arteriosa e dell'output cardiaco determina un incremento del sistema afferente, che di riflesso inibisce l'attività simpatica e/o incrementa l'attività parasimpatica. Al contrario, riduzioni della pressione arteriosa e della gettata cardiaca determinano una ridotta attività della via afferente, favorendo così per via riflessa risposte eccitatorie di compenso.

I test più frequentemente usati per studiare il sistema nervoso autonomo cardiovascolare sono quelli neurofisiologici. Le caratteristiche delle fibre post-gangliari del sistema nervoso autonomo, fibre amieliniche di piccolo calibro, non permettono un loro studio diretto attraverso le metodiche neurofisiologiche convenzionali. Pertanto, l'unica modalità di valutazione della loro funzione è quella indiretta, attraverso la determinazione delle risposte elicitate per via riflessa da stimoli appropriati.

Test fisiologici cardiovascolari

Attualmente sono disponibili complessivamente 8 test fisiologici standardizzati per lo studio dei riflessi autonomici cardiovascolari, che verranno di seguito descritti [Ravits 1997] [Corazza *et al.* 2014].

Standing: in aggiunta allo stimolo gravitazionale indotto dall'acquisizione della stazione eretta, l'ortostatismo attivo induce una compressione meccanica sia a livello delle vene di capacitanza che delle arterie di resistenza. L'effetto immediato della compressione dei vasi di capacitanza è dovuto alla contrazione dei muscoli di postura, che rimuovono il sangue verso il cuore e incrementano il ritorno venoso e la gittata cardiaca. In modo analogo, i muscoli determinano una contrazione anche dei vasi di resistenza con conseguente incremento della pressione arteriosa. Queste modificazioni determinano una stimolazione dei barorecettori, cui segue l'attivazione di un riflesso neuromediato che determina una riduzione dell'output simpatico, il rilasciamento del tono vasocostrittore, la riduzione delle resistenze periferiche totali, e una caduta della pressione arteriosa fino a 20 mmHg; queste modificazioni durano all'incirca 6-8 secondi. Con l'assunzione della stazione eretta, la frequenza cardiaca incrementa immediatamente e continua ad incrementare per alcuni secondi, fino a quando si riduce. Questa iniziale accelerazione della frequenza cardiaca è un meccanismo riflesso che riduce il tono parasimpatico, ed in seguito insorgono modificazioni mediate dal riflesso barorecettoriale che incrementano il tono simpatico. In seguito, vi è una fase di stabilizzazione regolata non solo dal riflesso autonomico, ma anche da meccanismi umorali, meccanismi di controllo renale e di passaggio capillare di fluidi. Lo studio della variazione della pressione arteriosa allo standing, permette di valutare l'integrità della funzione simpatica, mentre lo studio delle modificazioni della frequenza cardiaca permette di valutare l'integrità del sistema parasimpatico.

Head-up tilt test: il tilt test determina uno stimolo ortostatico passivo, infatti la posizione ortostatica viene assunta mediante lettino basculabile. Tale test è simile ma non identico allo standing (ortostatismo attivo). Le risposte indotte dal tilt test differiscono dallo standing poiché viene a mancare l'effetto vascolare della contrazione muscolare sui vasi di capacitanza e di resistenza. Con l'assunzione dell'ortostatismo mediante lettino basculabile, si verifica uno spostamento di sangue venoso, all'incirca

del 25-30%, dai compartimenti centrali verso quelli periferici; il 50% di tali modificazioni avviene entro pochi secondi. Tali modificazioni emodinamiche determinano una riduzione del ritorno venoso al cuore e quindi una riduzione, fino al 40%, della gittata cardiaca. La ridotta pressione arteriosa determina una diminuzione dell'attività afferente dei barorecettori, quindi la frequenza cardiaca aumenta, inizialmente per una riduzione dell'attività parasimpatica, ed in seguito per un incremento dell'attività simpatica. L'attività simpatica inoltre determina un aumento del tono vasale e delle resistenze vascolari periferiche. Complessivamente, si ha quindi che la gittata cardiaca si riduce del 20% e la pressione arteriosa viene così mantenuta stabile. Lo studio delle risposte che si verificano durante il tilt-table test permette la valutazione dell'integrità del riflesso autonomo cardiovascolare [Ravits1997].

Isometric hand-grip test: il test prevede una contrazione muscolare sostenuta e isometrica che causa un rialzo della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca dovuto ad un incremento dell'attività del sistema simpatico. Tale manovra determina una risposta che origina a livello dei chemorecettori, sensibili alle molecole prodotte dalle fibre muscolari striate, ed attraverso fibre nervose afferenti mieliniche di piccolo calibro e amieliniche, determina risposte riflesse cardiovascolari e vasomotorie; intervengono inoltre riflessi mediati dai meccanorecettori muscolari e un controllo soprassegmentario [Fu *et al.* 2002]. Studi di H₂ ¹⁵O PET hanno dimostrato, infatti, un'attivazione di diverse aree corticali e sottocorticali come risposta a stimoli cardiovascolari periferici. L'attivazione nella regione destra del cingolo, nel giro post-centrale sinistro, nel cervelletto, nell'insula posteriore destra, nel giro traverso temporale e nella corteccia orbito-frontale destra sembra covariare positivamente con le modificazioni pressorie durante esercizio isometrico [Critchley *et al.* 2000].

Mental arithmetic test: il test prevede di sottoporre il soggetto al calcolo aritmetico. Lo stress mentale così determinato, causa un incremento dell'attività simpatica e di conseguenza un aumento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca. Il test valuta le efferenze vasocostrittrici simpatiche e sembra dipendere prevalentemente dai centri superiori. E' stato visto in pazienti tetraplegici con lesioni cervicali complete, che il calcolo mentale non induce alcuna variazione della pressione arteriosa [Mathias and Bannister R. 1999]. Critchley e collaboratori, hanno dimostrato l'attivazione di

specifiche aree corticali e sottocorticali in risposta allo stress mentale [Critchley, Corfield, Chandler, Mathias, and Dolan2000].

Cold pressor test: lo stimolo del freddo determina un incremento della pressione arteriosa. Il circuito riflesso che sottende tale test origina dai termorecettori e dai nocicettori cutanei che, attraverso le fibre C amieliniche, determinano il successivo aumento dell'attività nervosa simpatica. E' ipotizzato, inoltre, un controllo centrale [Fu, Levine, Pawelczyk, Ertl, Diedrich, Cox, Zuckerman, Ray, Smith, Iwase, Saito, Sugiyama, Mano, Zhang, Iwasaki, Lane, Buckey, Jr., Cooke, Robertson, Baisch, Blomqvist, Eckberg, Robertson, and Biaggioni2002].

Manovra di Valsalva: la manovra di Valsalva consiste in un incremento improvviso e prolungato della pressione intratoracica ottenuto mediante espirazione forzata contro resistenza [Nishimura and Tajik 1986]. La risposta cardiovascolare alla manovra di Valsalva viene divisa in 4 fasi. Durante la prima fase si ha un aumento della pressione arteriosa, equivalente a quello della pressione intratoracica, che si accompagna a bradicardia per stimolazione dei barorecettori. La seconda fase è caratterizzata da una riduzione del ritorno venoso e della gittata cardiaca; la pressione arteriosa tende inizialmente a ridursi ma poi si stabilizza per l'intervento di tachicardia e vasocostrizione riflesse, con conseguente riduzione della pressione differenziale. Nella terza fase, al termine dello sforzo espiratorio, la pressione arteriosa scende in concomitanza di quella intratoracica. L'ultima fase consiste in un incremento della pressione arteriosa, secondario all'aumento improvviso del ritorno venoso, seguito da bradicardia per stimolazione dei barorecettori. In questo test vengono calcolati la Valsalva ratio, cioè il rapporto tra la massima frequenza cardiaca raggiunta in fase II e la minima frequenza cardiaca raggiunta in fase IV, e la presenza dell'overshoot pressorio (ovvero il rialzo pressorio oltre i livelli basali che si ottiene durante la fase IV) [Low 1993]. Lo studio delle variazioni della pressione arteriosa durante la manovra di Valsalva, permette di valutare l'integrità del sistema simpatico adrenergico cardiovascolare. Le modificazioni della frequenza cardiaca che avvengono durante la manovra di Valsalva (Valsalva ratio), sono un indice della integrità del sistema parasimpatico colinergico cardiovascolare.

Deep breathing: la variazione della frequenza cardiaca che si genera con la respirazione profonda, denominata aritmia sinusale, permette di valutare l'integrità del sistema efferente parasimpatico [Eckberg 1980]. L'inspirazione determina un incremento della frequenza cardiaca, mentre l'espiazione riduce la frequenza cardiaca. Tale variazione è principalmente mediata dalla innervazione cardiaca vagale. A dimostrazione di ciò, studi su animali hanno mostrato come la sezione del nervo vago ed il blocco parasimpatico (con agenti quali l'atropina), determinano una abolizione dell'aritmia sinusale, mentre il blocco del sistema simpatico (con beta bloccanti) non causa modificazioni significative dell'aritmia sinusale. Lo stiramento dei recettori polmonari in associazione con lo stiramento dei meccanorecettori cardiaci e forse anche dei barorecettori, contribuisce a regolare la variazione della frequenza cardiaca. In questo test vengono calcolate la differenza tra la massima frequenza cardiaca raggiunta in inspirazione e la minima frequenza cardiaca raggiunta in espiazione, durante sei atti respiratori eseguiti in un minuto.

Hyperventilation: l'iperventilazione induce uno stimolo di inibizione vagale, determinando un incremento della frequenza cardiaca. Non è completamente chiaro il meccanismo di inibizione del parasimpatico vagale, si ipotizza essere mediata dall'ipocapnia indotta dalla iperventilazione. Tale test è un indice della integrità del sistema parasimpatico cardiaco [Mathias and Bannister R.1999].

Tabella 3. Principali test per lo studio del sistema nervoso autonomo.

Test cardiovascolari	
Fisiologici	Head-up tilt – standing – manovra di Valsalva – isometric hand-grip – cold pressor – mental arithmetic – deep breathing – hyperventilation – test da carico post-prandiale – massaggio del seno carotideo
Biochimici	Dosaggio della noradrenalina plasmatica: head-up tilt o standing – catecolamine urinarie – attività reninica plasmatica – attività aldosteronica plasmatica
Farmacologici	Noradrenalina – isoprenalina – tiramina – edrofonio – atropine
Esami di immagine	Scintigrafia miocardica con ¹²³ I-MIBG – PET con [¹⁸ F]fluorodopamina]
Test endocrine	Test alla clonidina – test di stimolazione del GH (ormone della crescita)
Test sudomotori	Risposta simpatico cutanea (SSR) – thermoregulatory sweat test (TST) – quantitative sudomotor axon reflex test (QSART) – risposta alla iniezione intradermica di acetilcolina – test del sudore
Test gastro-intestinali	Video-cinefluoroscopia – clisma opaco – studio dello svuotamento gastrico e del transito intestinale – endoscopia – manometria
Test della funzione urinaria	Valutazione quantitativa della diuresi giornaliera – studi urodinamici – urografia intravenosa – ecografia – EMG sfintere
Test della funzione sessuale	Pletismografia peniena – iniezione intracavernosa di papaverina
Test della funzione respiratoria	Laringoscopia – polisonnografia
Test della funzione oculare	Studio farmacologico e fisiologico della funzione pupillare – test di Schirmer

La disautonomia nelle sindromi parkinsoniane

La disautonomia primaria cronica

L'insufficienza autonoma cronica è una delle forme principali di disautonomia. Nella maggior parte dei casi, è secondaria a processi patologici (ad esempio, il diabete, l'amiloidosi o il mieloma multiplo), ad agenti tossici (ad esempio, l'alcol) o a farmaci (quali i farmaci antidepressivi o gli antipsicotici). Nella forma primaria, invece, l'insufficienza autonoma cronica domina il quadro clinico e non ha una causa evidente.

Negli adulti, vi sono tre condizioni clinicopatologiche associate ad insufficienza autonoma primaria cronica ovvero, l'insufficienza autonoma pura, che si associa a ipotensione ortostatica senza segni o sintomi di neurodegenerazione centrale, l'atrofia multisistemica, che combina l'insufficienza autonoma con neurodegenerazione centrale (con diversa predilezione di territori anatomici), e l'insufficienza autonoma associata alla malattia di Parkinson [Mathias2003]. L'atrofia multisistemica e la malattia di Parkinson, condividono caratteristiche cliniche che possono rendere difficile la diagnosi distintiva di queste due patologie. Infatti, l'atrofia multisistemica può includere segni clinici parkinsoniani, d'altro canto pazienti con malattia di Parkinson possono presentare coinvolgimento del sistema nervoso autonomo [Goldstein 2003]. La recente applicazione di tecniche di neuroimaging al cuore ha permesso di distinguere queste due forme di disautonomia primaria cronica. Numerosi studi recenti hanno infatti rilevato come nella malattia di Parkinson sia presente la perdita dell'innervazione simpatica del cuore, dimostrata da una riduzione di concentrazione a livello miocardio della radioattività dopo iniezione dei marcatori simpaticoneurali 123I-metaiodobenzilguanidina (123I-MIBG) e 6-[18F]fluorodopamina, mentre vi è una mancata riduzione della pressione arteriosa in risposta al blocco gangliare con trimetafano [Orimo *et al.* 1999]. Inoltre, le misurazioni chimiche di noradrenalina, diidrossifenilglicolo (DHPG) e levodopa, effettuate in corso di cateterizzazione cardiaca, hanno confermato che le ridotte concentrazioni di radioattività nei pazienti con malattia di Parkinson sono conseguenti alla perdita, a livello cardiaco, di terminali nervosi simpatici [Goldstein *et al.* 2000]. Al contrario, pazienti con atrofia multisistemica presentano una intergità dell'innervazione simpatica cardiaca, mentre presentano un marcato decremento della pressione

arteriosa in risposta al trimetafano [Braune *et al.* 1999]. Le differenze riscontrate in questi studi, dimostrano la presenza di una lesione pre-gangliare nella atrofia multisistemica e post-gangliare nella malattia di Parkinson. L'importanza di differenziare la denervazione simpatica dalla presenza di terminali nervosi integri non è solo legata ad aspetti diagnostici ma anche terapeutici, con particolare riferimento all'ipotensione ortostatica.

La prevalenza dei sintomi disautonomici nella malattia di Parkinson varia dal 14% all'80% [Jost 2003]. Studi che hanno utilizzato metodiche strumentali di indagine della funzione autonoma urinaria [Galloway 1983] o cardiaca [Braune, Reinhardt, Schnitzer, Riedel, and Lucking 1999], hanno trovato una prevalenza maggiore di coinvolgimento del sistema nervoso autonomo nella malattia di Parkinson, rispettivamente del 75% e del 100% dei pazienti.

Negli ultimi anni, si è quindi rafforzata l'evidenza di un'alterazione del sistema simpatico adrenergico cardiovascolare nei pazienti con malattia di Parkinson. L'alterata innervazione del sistema simpatico adrenergico ha una importante rilevanza clinica, infatti, l'ipotensione ortostatica è presente nel 20-58% dei pazienti con malattia di Parkinson, ed è una condizione che peggiora la qualità di vita dei pazienti [Senard *et al.* 1997]. L'ipotensione ortostatica nei pazienti con malattia di Parkinson è stata a lungo considerata un effetto collaterale del trattamento con levodopa, una manifestazione solo degli stadi avanzati di malattia, o, se marcata e precoce, un indice di una forma atipica di parkinsonismo, come l'atrofia multisistemica. Al contrario, è stato visto come i pazienti con malattia di Parkinson associata ad ipotensione ortostatica, indipendentemente dal trattamento con levodopa e dalla durata di malattia, presentano una alterata funzione del riflesso barorecettoriale-cardiovagale e una perdita dell'innervazione simpatica cardiaca. In uno studio recente è stato dimostrato come una alterazione del sistema nervoso simpatico sia presente anche negli stadi iniziali di malattia, in pazienti de novo [Oka *et al.* 2006]. Queste osservazioni dimostrano come, nei pazienti con malattia di Parkinson, l'ipotensione ortostatica sia causata dal processo patologico della malattia e non dal trattamento farmacologico, sebbene i farmaci che direttamente o indirettamente producono vasodilatazione, possono aggravare l'ipotensione stessa.

Anche i disturbi gastrointestinali sono un'importante aspetto della malattia di Parkinson, rappresentando uno dei sintomi non motori più comuni insieme ai disturbi cardiovascolari [Magerkurth *et al.* 2005]. L'intero apparato gastrointestinale può essere coinvolto, ed i sintomi più frequentemente riportati sono la stipsi (50-80%), che a volte può precedere l'esordio dei sintomi motori stessi, la disfagia e l'ipersalivazione [Pfeiffer 1998].

I sintomi urinari sono di frequente riscontro nella malattia di Parkinson, e le infezioni delle vie urinarie sono una tra le cause più frequenti di morte in questi pazienti. Sono riportati prevalentemente sintomi quali pollachiuria, nicturia e urgenza minzionale [Sakakibara *et al.* 2014]. La predominanza dei sintomi urologici nella malattia di Parkinson sembra essere correlata ad una iperreflessia detrusoriale. È stato ipotizzato che la perdita delle efferenze dopaminergiche della sostanza nera possa essere direttamente la causa della iperreflessia [Sakakibara, Tateno, Nagao, Yamamoto, Uchiyama, Yamanishi, Yano, Kishi, Tsuyusaki, and Aiba2014]. È verosimile che l'iperattività del nucleo subtalamico sia alla base non solo dei sintomi motori, ma anche delle complicanze urodinamiche nei pazienti con malattia di Parkinson. A supporto di tale ipotesi, è stato di recente segnalato come vi sia un miglioramento significativo della iperreflessia del detrusore in pazienti sottoposti ad intervento di stimolazione cerebrale profonda nel nucleo subtalamico [Fowler 2001]. Ampi studi hanno stimato come la prevalenza di disturbi urinari nella malattia di Parkinson vari tra il 36 e il 90% [Jost2003].

L'alterazione della funzione erettile può far parte dello spettro della disautonomia nella malattia di Parkinson. E' sta infatti riportata una prevalenza di disturbi di erezione nel 68.4%, e di disturbi di eiaculazione nel 40.6% [Singer *et al.* 1992].

Nei pazienti con malattia di Parkinson è stata valutata la funzione sudomotoria con lo studio della risposta simpatico-cutanea (SSR), trovando un'incidenza di alterazione della risposta del 36% [Singer, Weiner, and Sanchez-Ramos1992]. I pazienti con malattia di Parkinson spesso lamentano una aumentata sudorazione del volto, del collo e degli arti superiori, oltre alla presenza di seborrea sul volto e sulle mani. Uno studio recente ha riportato la presenza di iperidrosi in circa il 50% dei pazienti [Magerkurth, Schnitzer, and Braune2005].

Studi della funzione pupillare nella malattia di Parkinson, hanno dimostrato risposte pupillari alterate allo stimolo luminoso e doloroso [Micieli *et al.* 1991].

[La disautonomia nei parkinsonismi genetici](#)

Negli ultimi anni, le informazioni riguardo la disautonomia nei parkinsonismi monogenici stanno diventando sempre più numerose.

È ormai noto come il fenotipo associato alla malattia da **alpha-synucleina** sia legato ad un quadro di disautonomia [Ahn *et al.* 2008]. I membri della famiglia Iowa, sono affetti da malattia di Parkinson a trasmissione autosomica dominante dovuta a triplicazione della alpha-synucleina [Singleton *et al.* 2003]. Le caratteristiche cliniche e neuropatologiche di questa famiglia, sono simili a quelle osservate in famiglie portatrici della mutazione missenso nella alpha-synucleina, come la famiglia Contursi. Il fenotipo della malattia di Parkinson della famiglia Contursi, include un quadro di disautonomia caratterizzato da ipotensione ortostatica, disfunzione del sistema simpatico cardiovascolare e denervazione simpatica cardiaca [Polymeropoulos *et al.* 1997]. Anche in membri della famiglia Iowa, è stata recentemente descritta la presenza di sintomi disautonomici, stipsi, incontinenza urinaria, sintomi da ipotensione ortostatica, e di denervazione simpatica cardiaca, dimostrata da una ridotta captazione miocardica di 6-[18F]-fluorodopamina [Singleton *et al.* 2003]. Vi è quindi evidenza di come la denervazione simpatica cardiaca sia causata non solo dalla mutazione nella alpha-synucleina, ma anche dalla sovraespressione della proteina normale. Sulla base della somiglianza delle caratteristiche cliniche, e quindi disautonomiche, e patologiche in queste due famiglie, gli autori ipotizzano che la sinucleinopatia possa essere un possibile meccanismo patogenetico della perdita delle cellule catecolaminergiche. Ad ulteriore supporto di tale ipotesi, è l'evidenza che nei pazienti con malattia di Parkinson sporadica, malattia frequentemente associata a disautonomia, i corpi di Lewy sono stati identificati non solo nella sostanza nera, ma anche nei gangli simpatici e negli organi ad innervazione simpatica [Iwanaga *et al.* 1999]. È noto che alpha-synucleina è uno dei costituenti dei corpi di Lewy; in familiari affetti della famiglia Iowa e della famiglia Contursi, sottoposti a studio anatomopatologico post-mortem, sono stati ritrovati i corpi di Lewy contenenti alpha-synucleina a livello cerebrale [Gwinn-

Hardy *et al.* 2000]. Ciò che rimane ancora sconosciuto, è se in queste famiglie i corpi di Lewy siano presenti anche al di fuori del cervello.

Le caratteristiche cliniche dei pazienti portatori di mutazione nel gene **LRK2**, sono simili a quelle della malattia di Parkinson idiopatica [Kachergus *et al.* 2005], pur non comprendendo un chiaro coinvolgimento del sistema nervoso autonomo come si può trovare nella forma sporadica. Khan e colleghi, hanno descritto un'ampia famiglia con mutazione LRK2, la famiglia Lincolnshire. Dei 7 soggetti viventi, solo uno riferiva la presenza di sintomi da ipotensione ortostatica, esorditi dopo 15 anni di malattia. Di tale paziente è stata eseguito lo studio anatomo-patologico post-mortem a livello cerebrale, con riscontro di corpi di Lewy [Khan *et al.* 2005]. In uno studio più recente, 5 pazienti portatori di mutazione LRK2 sono stati indagati con tecnica cardiaca scintigrafica; uno di questi presentava un ridotta captazione miocardica del marcatore simpaticoneurale 123I-metaiodobenzilguanidina [Tomiyama *et al.* 2006]. Gli autori ipotizzano che l'eterogeneità di tali risultati, corrisponda alla eterogeneità neuropatologica; infatti è noto come non tutti i pazienti con mutazione LRK2 presentino i corpi di Lewy. Un recentissimo ed approfondito studio della funzione simpatica cardiovascolare, è stato condotto su un paziente portatore di mutazione LRK2 [Goldstein *et al.* 2007]. Goldstein e colleghi, hanno dimostrato la presenza in questo paziente di denervazione simpatica cardiaca, di disfunzione della funzione cardiaca cardiovagale e del riflesso barorecettoriale. Il paziente presentava inoltre sintomi urinari, urgenza e aumentata frequenza urinaria con episodi di incontinenza notturna, e stipsi.

Il fenotipo **PINK1**, è stato recentemente descritto da una analisi dettagliata delle caratteristiche cliniche e laboratoristiche, comprensiva dello studio del sistema nervoso autonomo, condotta da Albanese e colleghi [Albanese *et al.* 2005b]. I test cardiovascolari e le immagini della scintigrafia miocardica con 123I-MIBG, hanno rilevato la presenza di una denervazione simpatica post-sinaptica, come osservato nella malattia di Parkinson idiopatica.

Non sono note descrizioni di disautonomia nella malattia da mutazione del gene **DJ1**.

La prima descrizione del possibile coinvolgimento del sistema nervoso autonomo nella malattia da **parkina** risale al 2000, quando Yamamura e colleghi [Yamamura *et al.* 2000] hanno descritto le caratteristiche cliniche di 22 famiglie, comprensive di 43 pazienti con parkinsonismo ad esordio precoce, riportando la presenza di lieve disautonomia, caratterizzata da stipsi nel 48% dei pazienti e da iperidrosi nel 25%. All'interno di questa casistica, 11 famiglie, comprensive di 21 pazienti, erano state identificate portatrici della mutazione parkina. Un grande limite di tale studio, è dovuto al fatto che gli autori non hanno distinto le caratteristiche cliniche dei due gruppi, quelli portatori e quelli non portatori della mutazione parkina. Sempre nello stesso anno, Lucking e collaboratori hanno descritto una ampia serie di pazienti affetti da malattia da parkina (36 famiglie, comprensive di 83 pazienti, e 18 casi sporadici) [Lucking *et al.* 2000]. L'11% dei pazienti denunciava la presenza di urgenza urinaria (unico sintomo indagato). Un successivo studio, basato su una revisione retrospettiva di cartelle cliniche, condotto su 24 pazienti con malattia da parkina, ha descritto la presenza di sintomi disautonomici nel 60% dei pazienti (urgenza urinaria nel 45%, impotenza nel 28% e sintomi ortostatici nel 13%) [Khan *et al.* 2003]. Gli autori hanno inoltre descritto, all'interno della propria serie, un caso di malattia da parkina in cui l'esordio dei sintomi era caratterizzato dalla presenza di disautonomia (sintomi da ipotensione ortostatica, incontinenza fecale, difficoltà di erezione e di eiaculazione, urgenza minzionale) associata a neuropatia periferica assonale. Lo studio dei riflessi cardiovascolari, condotto in questo paziente, mostrava una alterazione del sistema nervoso simpatico e parasimpatico. Recentemente, sono stati descritti tre casi di malattia da parkina in cui la scintigrafia miocardica con ¹²³I-MIGB è risultata normale [Orimo *et al.* 2005]. In due di questi pazienti è stata fatta l'autopsia, che non ha rivelato la presenza di corpi di Lewy a livello cerebrale. Nel 2007 il nostro gruppo ha mostrato che i sintomi relativi alla disautonomia cardiovascolare sono comuni nei pazienti con malattia da parkina tanto quanto nei controlli sani, e che la disfunzione erettile non è comune nei pazienti parkina. Al contrario, lo studio ha mostrato come i disturbi urinari siano presenti nel 60% dei pazienti, mentre questi sintomi non sono riportati dai controlli [Del Sorbo F. *et al.* 2007] (Figura 1). Ciò è in parte in accordo con la letteratura, infatti, uno studio retrospettivo su pazienti parkina, ha mostrato una prevalenza del 45% per l'incontinenza da urgenza e del 28% per la disfunzione erettile

[Khan et al. 2003]. La medesima serie, peraltro, menzionava un 13% di incidenza di sensazione di 'debolezza/fiacchezza' nel mantenimento dell'ortostatismo (*orthostatic faintness*) nei pazienti parkina. La diagnosi di ipotensione ortostatica basata sulla anamnesi, potrebbe portare a rilevare una sensazione aspecifica di 'capogiro o vertigine' (*non-specific dizziness*), al posto di sintomi legati ad una reale ipotensione ortostatica [Naschitz et al. 2006].

I sintomi disautonomici riportati dai pazienti parkina nella nostra serie, sono più lievi rispetto a quelli riportati dai pazienti con MP, nonostante una lunga durata di malattia [Magerkurth, Schnitzer, and Braune2005]. I test di reflattività cardiovascolare non hanno mostrato differenze tra pazienti e controlli nella valutazione quantitativa sia della funzione simpatica che parasimpatica (Tabella 4) [Del Sorbo F., Elia, De, Romito, Garavaglia, and Albanese2007]. I risultati dei test effettuati sui nostri pazienti, confermano inoltre la recente osservazione che i pazienti parkina, senza sintomi di disautonomia cardiovascolare, hanno una normale concentrazione a livello miocardio del tracciante 123I-metaiodobenzilguanidina (123I-MIBG), a dimostrazione di una normale innervazione simpatica cardiaca [Orimo, Amino, Yokochi, Kojo, Uchihara, Takahashi, Wakabayashi, Takahashi, Hattori, and Mizuno2005]. Questi dati potrebbero differenziare la malattia da parkina dalla MP e dal PINK1, patologie in cui è stata rilevata una denervazione simpatica post-gangliare [Albanese, Valente, Romito, Bellacchio, Elia, and Dallapiccola2005a]. Un'osservazione che potrebbe ulteriormente rafforzare il concetto che la disautonomia cardiovascolare non è associata al fenotipo parkina, è il riscontro della normalità dei test cardiovascolari nei nostri pazienti eterozigoti semplici, che sono noti per avere un fenotipo parkinsoniano più lieve ed un esordio più tardivo dei sintomi motori [Foroud et al. 2003].

Figura 1. Frequenza dei sintomi disautonomici nei pazienti parkina e nei controlli [Del Sorbo et al. 2007].

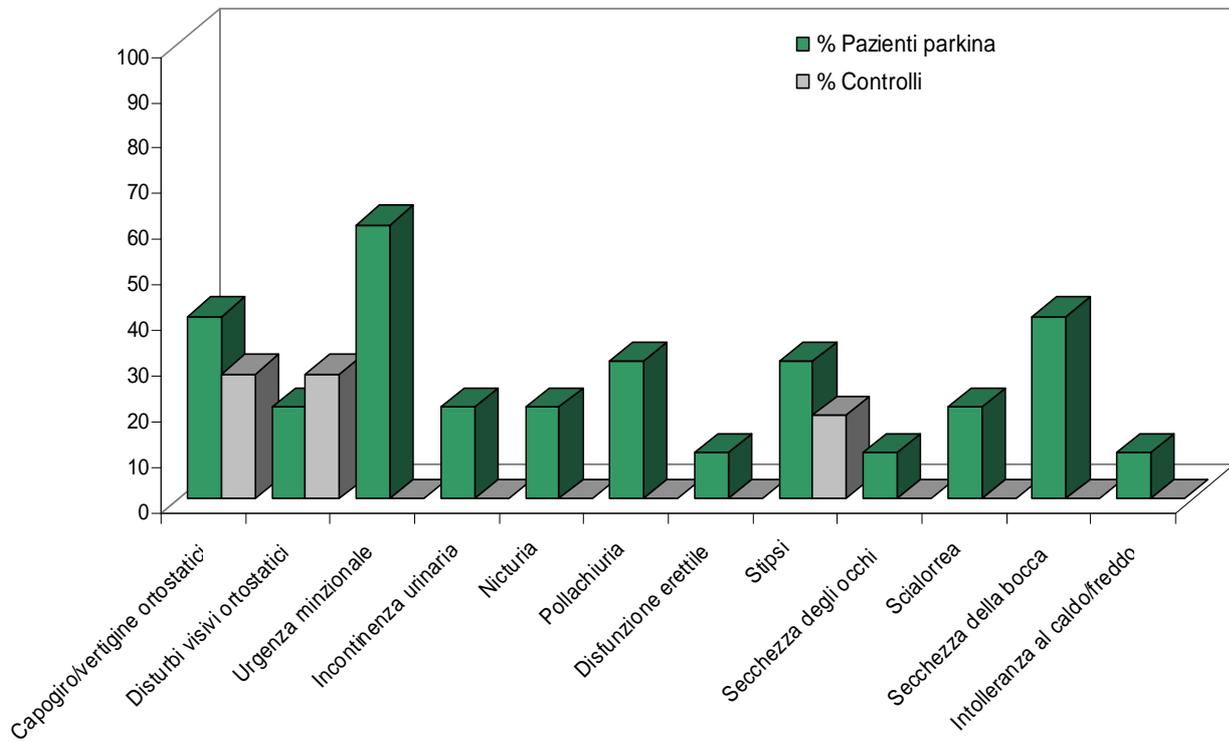


Tabella 4. Test di valutazione del sistema autonomo cardiovascolare nei pazienti affetti da malattia da parkina e nei controlli (variazioni medie \pm DS) [Del Sorbo et al. 2007].

Test	Pazienti Parkina	Controlli	P value
Head-up tilt test 60°			
Variazione della PS a 2 min (media mmHg)	0,1 \pm 7,1	-2 \pm 7,2	0,50
Variazione della PD a 2 min (media mmHg)	6,6 \pm 4,9	4,5 \pm 3,7	0,26
Variazione della FC a 2 min (media batt/min)	9,8 \pm 7,1	10,8 \pm 8,2	0,76
Variazione della PS a 5 min (media mmHg)	2,3 \pm 5,5	-0,1 \pm 7,7	0,44
Variazione della PD a 5 min (media mmHg)	6,1 \pm 5,8	4,3 \pm 3,3	0,38
Variazione della FC a 5 min (media batt/min)	9,9 \pm 7,0	11,0 \pm 8,2	0,74
Standing			
Variazione della PS a 5 min (media mmHg)	-1,2 \pm 8,2	1,9 \pm 5,7	0,32
Variazione della PD a 5 min (media mmHg)	6,1 \pm 5,4	6,1 \pm 6,4	0,99
Variazione della FC a 5 min (media batt/min)	13,8 \pm 7,0	12,7 \pm 8,9	0,73
Isometric hand-grip test			
Variazione della PD a 3 min (media mmHg)	12,9 \pm 5,1	21,8 \pm 7,9	0,007*
Cold pressor test			
Variazione della PS a 90 sec (media mmHg)	5,0 \pm 4,5	5,1 \pm 3,6	0,96
Mental arithmetic test			
Variazione della PS a 2 min (media mmHg)	18,6 \pm 14,1	13,0 \pm 10,7	0,31
Alterata fase IV della Manovra di Valsalva (percentuale)	40,0	27,3	0,53
Valsalva ratio	1,6 \pm 0,2	1,7 \pm 0,2	0,67
Deep breathing			
Differenza della FC a 1 min (media batt/min)	20,5 \pm 11,7	17,0 \pm 5,2	0,42
Hyperventilation			
Variazione della FC a 1 min (media batt/min)	28,9 \pm 19,9	21,9 \pm 11,1	0,33

Abbreviazioni: PS, pressione sistolica; PD, pressione diastolica; FC, frequenza cardiaca

Il declino cognitivo e la disautonomia nella malattia di Parkinson

La demenza è una delle caratteristiche più importanti non-motorie osservate nella malattia di Parkinson, con una prevalenza stimata tra il 23% e il 48% nella popolazione generale con malattia di Parkinson [Hobson and Meara 2004; Athey *et al.* 2005]. L'incidenza di demenza aumenta nel tempo e, dopo 15 anni di malattia, solo il 15% dei pazienti con malattia di Parkinson rimane senza deterioramento cognitivo [Hely *et al.* 2008]. La demenza ha rilevanti conseguenze cliniche per i pazienti con malattia di Parkinson in quanto è associata con un rischio aggiunto, specialmente di psicosi, apatia, accesso in case di cura e aumento della mortalità [Aarsland and Kurz 2010]. La fisiopatologia della demenza nella malattia di Parkinson è lungi dall'essere pienamente compresa e alcuni fattori di rischio generici sono stati esplorati. Studi longitudinali hanno dimostrato che i seguenti fattori di rischio sono associati ad un aumentato rischio di demenza: gravità dei segni motori, età avanzata, sesso maschile, basso livello di istruzione, allucinazioni visive, prominente rigidità assiale e bradicinesia [Aarsland and Kurz 2010].

I dati accumulati finora in letteratura lasciano pochi dubbi sul fatto che gli aggregati di alpha-sinucleina, principale componente dei corpi di Lewy, svolgono un ruolo importante nella patogenesi di diverse malattie neurodegenerative, tra cui la malattia di Parkinson e la demenza con corpi di Lewy. Crescenti evidenze collegano la formazione degli aggregati di alpha-sinucleina con l'insorgenza e la progressione dei sintomi clinici e la degenerazione delle cellule nervose. Il modello di distribuzione dei corpi di Lewy all'interno delle popolazioni neuronali selettivamente vulnerabili è considerato intimamente legato alle manifestazioni cliniche di queste malattie: la presenza dei corpi di Lewy nel tronco encefalico è ritenuta principalmente responsabili del parkinsonismo, mentre la localizzazione dei corpi di Lewy nelle aree limbiche e neocorticali correlano con il deterioramento cognitivo, e infine le localizzazioni nel tronco encefalico, midollo spinale, e nei gangli simpatici con disfunzione autonoma. Così, questi disturbi sono ritenuti rappresentare fenotipi in un continuum all'interno dello spettro delle malattie con corpi di Lewy, in cui le manifestazioni cliniche prevalentemente dipendono dalla distribuzione anatomica dei corpi di Lewy.

Come già evidenziato nei precedenti paragrafi, la disautonomia cardiovascolare è anche un evento comune nella malattia di Parkinson, interessando nel corso della malattia la maggior parte dei pazienti. Anomalie cardiovascolari, tra cui ipotensione ortostatica, ipertensione supina, instabilità della pressione arteriosa e inversione del ritmo circadiano della pressione arteriosa con assenza del dipping notturno, riguardano il 20-50% dei pazienti con malattia di Parkinson con una prevalenza che aumenta con il progredire della malattia [Senard, Rai, Lapeyre-Mestre, Brefel, Rascol, Rascol, and Montastruc1997]. Alcuni studi hanno suggerito una interdipendenza tra insorgenza di disautonomia cardiovascolari e demenza correlata alla malattia di Parkinson [Kenny *et al.* 2002] [Sambati *et al.* 2014]. Un recente studio caso-controllo ha trovato che tutti i pazienti con malattia di Parkinson con ipotensione ortostatica e ipertensione supina hanno un lieve decadimento cognitivo o demenza [Kim *et al.* 2012]. Recenti studi suggeriscono inoltre che la disautonomia cardiovascolare è più frequente e più grave nel parkinsonismo con demenza piuttosto che nel parkinsonismo senza demenza [Peralta *et al.* 2007]. Tale dato è supportato dalla assenza di disautonomia nella malattia da parkina che tipicamente è caratterizzata dalla assenza di compromissione cognitiva [Del Sorbo F., Elia, De, Romito, Garavaglia, and Albanese2007]. Tali dati sono in linea con l'osservazione che anche nella popolazione generale il declino cognitivo è associato con bassi valori pressori, fluttuazioni della pressione arteriosa e lo stato non-dipping [Yap *et al.* 2008;Nagai *et al.* 2008].

I fattori genetici possono anche svolgere un ruolo importante nello sviluppo di declino cognitivo nella malattia di Parkinson. E' stato affermato che i pazienti portatori di moltiplicazioni del gene SNCA presentano comunemente deterioramento cognitivo e disautonomia cardiovascolare [Elia *et al.* 2013]. Oltre alle forme monogeniche di malattia di Parkinson con demenza, sono stati anche descritti fattori di rischio genetici associati a malattia di Parkinson e deterioramento cognitivo. Il più importante di questi fattori sono le mutazioni in eterozigosi del gene glucocerebrosidasi (GBA) [Velayati *et al.* 2010]. Infatti, recenti studi caso-controllo ha ritrovato che la malattia di Parkinson associata a mutazioni GBA ha un rischio maggiore di sviluppare demenza, disturbi neuropsichiatrici o disautonomia cardiovascolari [Alcalay *et al.* 2012;Brockmann *et al.* 2011].

La malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene glucocerebrosidasi (GBA)

Più recentemente, sono stati scoperti importanti fattori di rischio genetici per la malattia di Parkinson, cioè varianti genetiche non sufficienti a causare la malattia ma che, se presenti, aumentano notevolmente il rischio di ammalare (anche fino a 5-6 volte tanto rispetto ai non portatori) [Spatola and Wider2014]. Tali fattori di rischio genetici comprendono varianti polimorfiche in numerosi geni e mutazioni in eterozigosi in geni solitamente non causativi di malattia di Parkinson, come il gene della beta-glucocerebrosidasi (GBA, OMIM #230800), responsabile della malattia di Gaucher.

Il gene umano GBA è localizzato sul cromosoma 1 (1q21); GBA comprende 11 esoni e 10 introni. Il gene GBA è noto per essere carente nei pazienti con malattia di Gaucher. La malattia di Gaucher è una patologia rara recessiva caratterizzata da un ampio spettro di sintomi neurologici e non neurologici, tra cui epatosplenomegalia, anemia, trombocitopenia, malattie delle ossa [Martins *et al.* 2009]. La carenza di GBA porta all'accumulo del suo substrato, glucosilceramide, all'interno dei lisosomi di una varietà di tipi cellulari, inclusi i neuroni e i macrofagi. Clinicamente, la malattia di Gaucher è altamente variabile, e lo spettro della malattia correla, almeno in parte con l'attività residuale dell'enzima [Cox and Schofield 1997]. Nella sua forma più severa, definita tipo 2, l'esordio è infantile, vi è accumulo di glucosilceramide in una varietà di tipi cellulari, inclusi i neuroni, che porta rapidamente a una malattia neurodegenerativa fatale [Cox and Schofield1997]. Nella variante di tipo 1, a esordio tardivo, vi è abbastanza attività residua dell'enzima per prevenire l'accumulo in tutti i tipi di cellule esclusi i macrofagi, che sono esposti a un elevato carico di glicosfingolipidi dovuto al loro ruolo nella fagocitosi di cellule del sangue. Questi lipidi carichi di macrofagi, chiamati cellule di Gaucher, infiltrano il fegato, la milza e il midollo osseo, e i pazienti possono presentare una organomegalia, ipersplenismo e, nella forma più severa, infarto dell'osso [Cox and Schofield1997].

Le manifestazioni neurologiche riguardano solo circa il 5% dei pazienti con la forma omozigote della malattia di Gaucher [Martins, Valadares, Porta, Coelho, Semionato, Pianovski, Kerstenetzky, Montoril, Aranda, Pires, Mota, and Bortolheiro2009], mentre

solo il 2% dei pazienti presenta parkinsonismo [Kraoua *et al.* 2009]. Il parkinsonismo nella malattia di Gaucher è caratterizzato da esordio precoce, inadeguata risposta alla levodopa e segni di disfunzione corticale. Inoltre, i pazienti con malattia di Gaucher presentano corpi di Lewy immunoreattivi alla alfa-sinucleina, caratteristiche neuropatologiche osservate nella malattia di Parkinson [Wong *et al.* 2004].

È stato recentemente osservato che portatori eterozigoti della mutazione GBA, che sono stati tradizionalmente considerati non affetti da questo gene autosomico recessivo, hanno un rischio 5 volte maggiore di sviluppare malattia di Parkinson [Sidransky *et al.* 2009]. Questi pazienti non sviluppano il fenotipo completo della malattia di Gaucher, compresi i sintomi epatici, che richiedono almeno una perdita dell'80% dell'attività GBA epatica [Meivar-Levy *et al.* 1994]. Due mutazioni (p.N370S e p.L444P) sono comuni nelle popolazioni ebraica dove sono state riscontrate in oltre il 15% dei casi di malattia di Parkinson; questi rappresentano anche i due alleli più comuni nei pazienti italiani con malattia di Gaucher [Filocamo *et al.* 2002]. Tra i non-ebrei Ashkenazi, invece, queste mutazioni GBA si trovano in circa il 3% dei pazienti [Sidransky *et al.* 2009].

Pochi studi hanno indagato il ruolo delle mutazioni in eterozigosi del gene GBA nei pazienti italiani con malattia di Parkinson. Uno studio condotto su una popolazione di pazienti con malattia di Parkinson non selezionati provenienti dal Sud Italia ha riportato una frequenza del 2,8% di portatori GBA [De Marco *et al.* 2008].

Vi è una scarsità di dati clinici di pazienti con malattia di Parkinson portatori di mutazioni GBA, soprattutto per quanto riguarda le caratteristiche non-motorie. Il fenotipo è stato descritto essere simile a quella di non portatori, anche se i portatori di mutazioni GBA avevano una minore frequenza di esordio asimmetrico, tremore a riposo e bradicinesia, e età d'esordio più giovanile [Sidransky *et al.* 2009]. Dati preliminari suggeriscono che le caratteristiche non-motorie possono essere comuni nei pazienti con malattia di Parkinson GBA-positivi [Neumann *et al.* 2009]. L'analisi delle caratteristiche non-motorie ha rivelato una possibile maggiore frequenza di sintomi cognitivi nei portatori GBA [Sidransky *et al.* 2009]. A parte un breve cenno che ipotensione ortostatica ha la stessa frequenza nei portatori e non portatori GBA, le funzioni autonome non sono state studiate in dettaglio.

Vi è attualmente un notevole interesse sulla relazione tra il gene GBA e il fenotipo associato nelle sindromi parkinsoniane. Ad oggi molti aspetti rimangono ancora da affrontare per quanto riguarda il ruolo di GBA in eterozigosi nelle sindromi parkinsoniane con corpi di Lewy. In primo luogo, non è chiaro quale è il fenotipo dei pazienti portatori di mutazioni GBA e una serie di importanti questioni cliniche restano aperte: la risposta alla terapia dopaminergica, la fenomenologia delle complicazioni motorie, la frequenza e la gravità dei sintomi non motori. Inoltre, l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti medici e chirurgici nei portatori GBA è sconosciuta GBA. Infine, non è chiaro se vi sia un fenotipo comune associato a portatori di mutazioni GBA o differenti mutazioni possono portare a differenti fenotipi.

STUDIO SPERIMENTALE

Obiettivi dello studio

Pochi studi hanno indagato il profilo dei sintomi non motori nella malattia di Parkinson di origine genetica. In particolare pochi dati clinici sono disponibili sui pazienti con malattia di Parkinson che sono portatori del gene GBA, soprattutto in relazione alle caratteristiche non-motorie. Questo studio è mirato alla caratterizzazione dei sintomi non-motori, con particolare attenzione alla valutazione delle funzioni neurovegetativa, cognitiva e comportamentale, nel parkinsonismo associato a mutazione del gene GBA con la finalità di verificare se tali sintomi non-motori siano parte dello spettro clinico di questi pazienti.

E' stato condotto su una coorte di pazienti affetti da malattia di Parkinson con simili caratteristiche cliniche e simile durata di malattia e durata di esposizione alle terapie dopaminergiche, che erano stati tutti sottoposti ad una analisi genetica per la ricerca di mutazioni in uno dei geni finora associati alla malattia di Parkinson. All'interno di questa coorte omogenea sono stati identificati due gruppi diversi in relazione al genotipo (pazienti portatori della mutazione GBA e pazienti non portatori di nessuna mutazione) e le caratteristiche non-motorie sono state confrontate nei due gruppi. Sono state pertanto indagati il sistema nervoso autonomo, mediante studio dei riflessi cardiovascolari e analisi dei sintomi disautonomici, e le funzioni cognitivo-comportamentali in pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazione del gene GBA. I risultati sono stati messi a confronto con il gruppo di controllo.

Lo studio è stato quindi condotto con l'obiettivo primario di valutare se, ed in che misura, la funzionalità autonoma cardiovascolare sia alterata nei pazienti con malattia di Parkinson associata a mutazione del gene GBA.

Un secondo obiettivo dello studio è quello di caratterizzare i diversi sintomi autonomi, genito-urinari, gastro-intestinali, termoregolazione, sudorazione e cardiovascolari nei pazienti affetti malattia di Parkinson associata a mutazione del gene GBA.

Un terzo obiettivo dello studio è valutare il profilo cognitivo e i disturbi del controllo degli impulsi e i comportamenti nei pazienti affetti malattia di Parkinson associata a mutazione del gene GBA.

Materiali e metodi

Studio clinico prospettico cross sectional

Un registro clinico genetico per i pazienti con disturbi del movimento è stato avviato nel 2000 presso l'Istituto Neurologico C. Besta, centro di riferimento di terzo livello. I pazienti affetti da parkinsonismo sono stati valutati almeno due volte all'anno da un neurologo esperto in disturbi del movimento, che ha verificato la diagnosi e la terapia.

Tutti i pazienti hanno fornito informazioni sulla storia familiare e compilato un questionario anamnestico dettagliato sui sintomi motori e non motori comunemente osservati nei pazienti affetti da parkinsonismo. Dopo raccolta del consenso informato, i pazienti disponibili sono stati sottoposti a prelievo genetico per l'estrazione del DNA.

Lo studio è stato condotto durante gli anni 2011-2014 presso l'UO di Neurologia 1 – Disordini del movimento dell'Istituto Carlo Besta di Milano. I pazienti eleggibili per lo studio sono stati individuati dal registro clinico - genetico dell'Istituto Besta secondo i criteri di inclusione ed esclusione sotto riportati. Sono stati anche inclusi tutti i nuovi pazienti, rispondenti ai criteri di inclusione, ed afferiti all'UO Neurologia 1 dell'Istituto Besta come prima visita durante il primo anno dello studio. Tutti i pazienti inclusi hanno acconsentito allo studio firmando un consenso informato.

Ogni paziente incluso è stato genotipizzato presso l'UO di Neurogenetica Molecolare dell'Istituto Besta secondo i metodi sotto indicati. I pazienti sono stati classificati secondo il genotipo nei seguenti gruppi: 1) pazienti portatori di mutazioni del gene GBA; 2) pazienti non portatori di mutazioni patogene in nessuno dei geni associati a malattia di Parkinson.

Criteri di inclusione e di esclusione

Ai fini di questo studio abbiamo selezionato dal registro tutti i pazienti, esaminati fino al mese di settembre 2014, che rispondevano ai seguenti criteri di inclusione: 1) diagnosi di malattia di Parkinson (MP) clinicamente definita o probabile secondo i criteri di Gelb et al. 1999 [Gelb, Oliver, and Gilman1999]; 2) età d'esordio inferiore a 50 anni oppure presenza di storia familiare positiva per disturbi del movimento, la storia familiare è stata considerata positiva in presenza di almeno un familiare di primo,

secondo o terzo grado affetto da parkinsonismo, tremore o distonia; 3) durata di malattia di almeno 3 anni.

Sono stati esclusi i pazienti risultati portatori di una mutazione patogena in uno degli altri geni associati a malattia di Parkinson (PARK1, PARK2, PARK6, PARK7, PARK8). Non sono stati considerati eleggibili i pazienti affetti da demenza secondo i criteri del DSM-IV e i pazienti sottoposti a trattamento di neurostimolazione cerebrale profonda nel nucleo subtalamico (STN DBS).

Tali criteri di esclusione sono stati individuati per ridurre le variabili cliniche che possono influenzare l'outcome primario dello studio. I pazienti con demenza possono infatti presentare una tale disabilità funzionale da compromettere la corretta esecuzione dei test neurovegetativi. Il trattamento chirurgico con STN DBS è stato considerato un criterio di esclusione perché può essere associato alla comparsa di deficit cognitivi in paziente predisposti [York *et al.* 2008].

I seguenti dati clinici e demografici sono stati raccolti per ciascun paziente: 1) dati demografici (età, genere, luogo di nascita, area/aree di provenienza della famiglia); 2) anamnesi familiare (presenza di familiarità definita come sopraesposto, presenza di consanguineità tra i genitori del paziente o di ricorrente consanguineità tra i familiari); 3) caratteristiche dettagliate dell'esordio di malattia (età d'esordio, tipo di esordio motorio/non motorio, sintomo d'esordio, sede dell'esordio motorio); 4) genotipo (presenza di mutazioni nei geni associati a parkinsonismo, tipo di mutazione); 5) caratteristiche delle complicazioni motorie (presenza delle complicanze, durata di malattia al momento della comparsa delle fluttuazioni OFF o delle discinesie di piccolo dose); 6) caratteristiche cliniche non motorie (in particolare presenza di sintomi cognitivi o neuropsichiatrici, descrizione dei sintomi non motori); 7) attuale posologia della terapia dopaminergica, misurata in levodopa equivalenti, LEDD (la dose quotidiana di LEDD, misurata in mg, è stata ottenuta sommando alla dose standard di levodopa tutti gli altri farmaci dopaminergici dopo una conversione in unità di potenza relativa della levodopa standard [Romito *et al.* 2009]); 8) durata di malattia.

Analisi genetico-molecolare

L'analisi genetica dei pazienti è stata effettuata presso il laboratorio di Neurogenetica Molecolare dell' Istituto Neurologico C. Besta. Il DNA dei pazienti è stato estratto da linfociti di sangue periferico con metodica standard mediante Fenolo/Cloroformio e amplificato tramite PCR.

Per il gene GBA sono stati disegnati primers "ad hoc" per la ricerca delle mutazioni più frequenti. Sono state indagate le due mutazioni più comuni N370S e L444P. I segmenti amplificati sono stati sottoposti a sequenziamento diretto utilizzando il sequenziatore automatico AbiPrism 3130XL Genetic Analyzer. Nei pazienti negativi alla ricerca di queste due mutazioni ogni esone e i segmenti di giunzione esone-introne del gene GBA sono stati testati per la ricerca di altre mutazioni attraverso amplificazione della PCR e sequenziamento.

L'eventuale presenza di altre mutazioni nei geni noti per associazione con malattia di Parkinson (PARK1, PARK2, PARK6, PARK7, PARK8) è stata esclusa secondo la metodologia altrove descritta [Sironi *et al.* 2013; Elia *et al.* 2014; Elia *et al.* 2005a; Di Fonzo *et al.* 2005].

Protocollo di valutazione del sistema nervoso autonomo

Valutazione clinica

La valutazione clinica della disautonomia è stata condotta somministrando ai pazienti il questionario 'Scales for Outcomes in PD-Autonomic' (SCOPA-AUT) che indaga i sintomi autonomici nella malattia di Parkinson [Visser *et al.* 2004]. Lo SCOPA-AUT è un questionario autosomministrato composto da 25 domande relative alle seguenti funzioni: gastrointestinale (7 domande), urinario (6 domande), cardiovascolare (3 domande), termoregolazione (4 domande), pupillomotorio (1 domanda), e sessuale (2 domande per gli uomini e 2 domande per le donne). Le caratteristiche psicometriche di tale questionario sono state valutate tramite analisi Rasch, risultando lo SCOPA-AUT uno strumento affidabile e valido per la valutazione della disautonomia nella malattia di Parkinson [Forjaz *et al.* 2010].

Test cardiovascolari

I test di valutazione dei riflessi cardiovascolari sono stati condotti in accordo ad una metodologia standardizzata [Mathias and Bannister R.1999]. Bevande contenenti caffeina, sigarette e alcolici sono stati sospesi almeno 24 ore prima dell'esecuzione dei test. I pazienti inclusi nello studio sono stati studiati senza sospendere la terapia parkinsoniana. Prima della valutazione del sistema nervoso autonomo, sono stati sospesi i farmaci che potevano alterare le risposte vegetative (ad esempio farmaci antagonisti dei recettori alfa o beta adrenergici), con un tempo di sospensione pari a tre volte l'emivita plasmatica. Tutti i test sono stati condotti al mattino, almeno due ore dopo una colazione leggera, in una stanza tranquilla e con temperatura controllata tra i 21-24°C. Prima di iniziare la valutazione, il soggetto doveva aver svuotato la vescica.

E' stata utilizzata una strumentazione avanzata per la misurazione della pressione arteriosa, che consente di rilevare tale parametro in continuo, con metodo non invasivo (Task Force Monitor 3040i, CNSystems). La misurazione della pressione arteriosa (PA) avviene attraverso una cuffia posta alla falange del dito medio della mano non dominante, dotata di un sistema di registrazione foto-pletismografico a raggi infrarossi, che permette di misurare il volume di sangue che passa nelle arteriole sottostanti. Tale dispositivo consente la registrazione battito a battito (beat-to-beat) della PA; la frequenza cardiaca (FC) viene derivata dall'onda pressoria arteriale. I soggetti sono stati posti su un lettino basculante (Tilt table), che ha la possibilità di essere manovrato elettronicamente per raggiungere, ad una velocità costante, l'angolo di inclinazione stabilito. I soggetti dovevano rimanere sul lettino in posizione supina ed orizzontale, rilassati ed in silenzio, per tutta la durata dell'esame, mentre PA e FC venivano monitorati in continuo.

Ciascun soggetto è stato sottoposto ad una batteria standard di otto test non invasivi che valutano la funzione del sistema nervoso autonomo mediante lo studio dei riflessi cardiovascolari [Braune *et al.* 1996; Mathias and Bannister R.1999]. Prima di iniziare l'esame, il soggetto giaceva supino per almeno 15 minuti, in modo da stabilizzare PA e FC. Tra un test e l'altro vi era un tempo di riposo di almeno 5 minuti, necessario a ripristinare i valori basali di PA e FC. I test vengono di seguito esposti, con la medesima

sequenza con cui sono stati somministrati alla popolazione in studio. *Head-up tilt test*: tramite il lettino basculante il soggetto è stato portato in posizione verticale con un angolo di inclinazione di 60°, per un periodo di 9 minuti; è stata calcolata la differenza tra i parametri di PA e FC ottenuti ai vari tempi di misurazione (secondo, quinto, settimo e nono minuto di tilt) ed i rispettivi valori basali. *Mental arithmetic*: il soggetto è stato invitato a compiere sottrazioni successive, di difficoltà differente in base al grado di scolarizzazione (ad esempio, sottrazioni di 7 o 17 da 100 o 400) per due minuti; è stata calcolata la differenza tra i parametri di PA e FC ottenuti a fine manovra e quelli basali. *Cold pressor*: la mano del paziente è stata posta in acqua ghiacciata per 90 secondi; è stata calcolata la differenza tra i parametri di PA e FC ottenuti a fine manovra e quelli basali. *Isometric hand-grip*: è stato calcolato il 30% della massima contrazione muscolare massima raggiunta dal soggetto e si è quindi richiesto al soggetto di mantenere tale contrazione per 3 minuti; è stata calcolata la differenza tra i parametri di PA e FC ottenuti a fine manovra e quelli basali. *Hyperventilation*: il soggetto è stato invitato ad iperventilare per un minuto; è stata calcolata la differenza tra la FC raggiunta a fine manovra e la FC basale. *Deep breathing*: il soggetto è stato invitato a respirare profondamente al ritmo di sei atti consecutivi al minuto (cicli espiratori ed inspiratori di 5 secondi), per un periodo di 60 secondi; è stata calcolata la differenza tra la media delle massime FC raggiunte in inspirazione e la media delle minime FC raggiunte in espirazione durante il 6 atti respiratori. *Manovra di Valsalva*: al soggetto è stato chiesto di soffiare a glottide aperta dentro un boccaglio connesso ad un manometro, mantenendo una pressione di espirazione forzata di 40 mmHg per 15 secondi (manovra ripetuta tre volte, a distanza di almeno due minuti una dall'altra); è stato quindi calcolato il Valsalva ratio (cioè il rapporto tra la massima FC raggiunta in fase II e la minima FC raggiunta in fase IV), e la presenza dell'overshoot pressorio (PA media in fase IV - PA media in fase I). *Standing*: il soggetto è stato invitato ad alzarsi rapidamente dal lettino e a mantenere la stazione eretta per 5 minuti; è stata calcolata la differenza tra i parametri di PA e FC ottenuti ai vari tempi di misurazione (2 e 5 minuti) ed i rispettivi valori basali.

[Protocollo di valutazione delle funzioni cognitive e comportamentali](#)

Ogni paziente incluso nello studio è stato valutato utilizzando il questionario 'Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson's Disease-Rating Scale'

(QUIP-RS) [Weintraub *et al.* 2012]. Si tratta di un questionario che misura la gravità dei sintomi di discontrollo degli impulsi e supporta la diagnosi di disturbo del controllo degli impulsi nella malattia di Parkinson. Inoltre i soggetti inclusi sono stati sottoposti a una completa batteria di valutazione neuropsicologica comprendente il test 'Montreal Cognitive Assessment' (MOCA) [Dalrymple-Alford *et al.* 2010], il trail making test [Higginson *et al.* 2013] per la valutazione delle funzioni esecutive, la valutazione del tono dell'umore con il punteggio della mania e la Beck depression inventory [Schrag *et al.* 2007], il punteggio della scala per l'apatia e la scala di BARRATT per la valutazione della impulsività [Patton *et al.* 1995] e la scala State-Trait Anxiety Inventory (STAI) per la valutazione dell'ansia [Marteau and Bekker 1992].

I test cognitivo-comportamentali sono stati somministrati da un neuropsicologo e le valutazioni autonimiche da un neurologo che non erano a conoscenza della diagnosi genetica.

Analisi statistica

I pazienti inclusi sono stati suddivisi secondo il risultato degli esami genetici in gruppi caratterizzati da simile genotipo: 1) pazienti portatori di almeno una mutazione patogena nel gene GBA, 2) pazienti non portatori di mutazioni patogene nel gene GBA. Una statistica descrittiva è stata realizzata per ciascun gruppo di studio. I dati clinici e demografici sono stati espressi come medie (\pm DS) e confrontati tra i diversi gruppi genetici attraverso un'analisi non parametrica.

I dati clinici continui sono stati confrontati tra i due gruppi utilizzando una statistica non parametrica con il test Mann-Whitney U test. Per i confronti multipli è stata applicata la correzione di Bonferroni. I dati clinici categorici sono stati confrontati attraverso il test del chi quadrato di Pearson. Un valore di P superiore a 0,05 è stato considerato statisticamente non significativo. È stato utilizzato il software SPSS per Windows per l'analisi dei dati (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), versione 12.0.

Risultati

Pazienti portatori di mutazione del gene GBA

Ad oggi 450 pazienti con malattia di Parkinson sono stati sottoposti a screening per le mutazioni L444P e N370S del gene GBA. Trentasei pazienti (8%) sono risultati portatori di almeno una mutazione del gene GBA con un rapporto F:M di 1: 0,75. L'età media di insorgenza di tutti i portatori era, al momento della osservazione, di $47,5 \pm 9,6$ anni e la durata media della malattia di $9,5 \pm 7,5$ anni. Quindici pazienti sono risultati portatori della mutazione L444P allo stato di eterozigote e la mutazione N370S è risultata presente in ventuno pazienti allo stato di eterozigote.

Pazienti portatori di mutazione L444P

I pazienti con malattia di Parkinson portatori di mutazione L444P in eterozigoti erano caratterizzati da una età media d'esordio di $48,8 \pm 12,2$ anni e una durata media della malattia di $8,8 \pm 7,2$ anni. La LEDD media era di $922,2 \pm 587,4$ e l'UPDRS-III, nello stato off, era di $40,4 \pm 21,6$.

La storia familiare positiva era presente in 8 pazienti. L'esordio era caratterizzato da bradicinesia asimmetrica in 8 pazienti, tremore asimmetrico in 6 pazienti e un paziente con dolore unilaterale della spalla. All'ultima valutazione clinica, il tremore a riposo era presente in 11 pazienti, la bradicinesia e la rigidità erano presenti in tutti i pazienti. Dopo una durata media della malattia di $6,3 \pm 3,5$ anni, 11 pazienti hanno sviluppato complicanze motorie sia con fluttuazioni motorie sia con discinesie.

Pazienti portatori di mutazione N370S

I pazienti con malattia di Parkinson portatori di mutazione N370S erano caratterizzati da una età media di insorgenza di $46,4 \pm 7,1$ anni e durata media della malattia di $10,1 \pm 8,2$ anni. La LEDD media era di $590,0 \pm 631,5$ e l'UPDRS-III, nello stato off, era $26,3 \pm 18,6$. Una storia familiare positiva era presente in 6 pazienti. L'esordio era caratterizzato da bradicinesia asimmetrica in 11 pazienti e tremore asimmetrico negli altri dieci. All'ultima valutazione clinica, tutti i pazienti presentavano bradicinesia e rigidità, e cinque pazienti avevano in aggiunta tremore. Dopo una durata media della malattia di $5,8 \pm 2,7$ anni due pazienti ha sviluppato complicanze motorie sia con fluttuazioni motorie sia con discinesie.

Studio del sistema nervoso autonomo

Lo studio dettagliato delle funzioni autonome è stato completato in una serie complessiva di 26 pazienti di cui 10 affetti da parkinsonismo associato a mutazioni del gene GBA e 16 non portatori di mutazioni patogene in geni noti.

L'età media d'esordio dei pazienti portatori di mutazione GBA era di $45,5 \pm 8,6$ anni e la durata di malattia era di $10,0 \pm 3,7$ anni. Tre pazienti portatori di mutazione GBA presentavano la mutazione L444P allo stato eterozigote, la mutazione N370S era presente allo stato eterozigote in 7 pazienti. I pazienti GBA assumevano una terapia dopaminergica con il dosaggio medio di $421,2 \pm 403,4$ LEDD di levodopa e di $202,6 \pm 153,7$ LEDD di terapia con dopaminoagonisti. Il rapporto F:M era di 1,5:1.

Sono stati inclusi 16 pazienti affetti da malattia di Parkinson non risultati portatori di mutazioni in nessuno dei geni testati. L'età d'esordio era in media di $40,9 \pm 6,7$ anni e la durata di malattia di $7,1 \pm 4,5$ anni. I pazienti non portatori assumevano una terapia dopaminergica con il dosaggio medio di $542,3 \pm 515,7$ LEDD di levodopa e di $188 \pm 148,5$ LEDD di terapia con dopaminoagonisti. Il rapporto F:M era di 0,6:1.

Le caratteristiche demografiche comparative dei singoli gruppi dei pazienti inclusi sono riassunte in tabella 1. Non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi nelle caratteristiche demografiche e cliniche.

Tabella 1. Dati demografici dei 26 pazienti inclusi nello studio delle funzioni vegetative suddivisi nei due gruppi genetici.

	Pazienti GBA	Pazienti non portatori	P
Numero	10	16	
Rapporto F/M	1,5/1	0,6/1	0,26
Età d'esordio (anni)	45,5 (±8,6)	40,9 (± 6,7)	0,07
Durata di malattia (anni)	10,0 (± 3,7)	7,1 (± 4,5)	0,10
LEDD (levodopa)	421,2 (± 403,4)	542,3 (± 515,7)	0,18
LEDD (DAs)	202,6 (± 153,7)	188,3 (± 148,5)	0,21

Abbreviazioni: DAs, dopaminoagonisti; LEDD, levodopa equivalenti.

* Test U di Mann-Whitney

Frequenza dei sintomi autonomici

La somministrazione del questionario SCOPA-AUT ha mostrato che tutti i pazienti portatori di mutazione nel gene GBA denunciavano la presenza di sintomi di disautonomia in almeno un dominio. In merito alla frequenza dei sintomi autonomici (figura 1), la frequenza più elevata è stata rilevata per i disturbi digestivi (90%), seguiti dai disturbi urinari (80%), disturbi della funzione sessuale maschile (75%), disturbi intestinali (70%), disturbi di termoregolazione (60%), disturbi cardiovascolari (50%), e infine disturbi della funzione pupillomotoria e della funzione sessuale femminile (40%, rispettivamente).

Test autonomici cardiovascolari

I risultati del confronto tra i due gruppi sono riassunti nella Tabella 2.

La valutazione quantitativa della funzione ortosimpatica non ha evidenziato differenze tra i pazienti portatori di mutazione GBA e i pazienti non portatori di mutazioni patogene per malattia di Parkinson per le variazioni della pressione arteriosa durante il head-up tilt test o lo standing. La presenza di ipotensione ortostatica è stata riscontrata in 2/10 pazienti portatori di mutazione GBA e in nessun paziente non portatore di mutazioni patogene ($p=0.06$).

I test di stimolazione ortosimpatica diretta (isometric hand-grip test, cold pressor test, mental arithmetic test) hanno mostrato la presenza di risposte patologiche in un maggior numero di pazienti con mutazione GBA rispetto ai pazienti senza mutazioni patogene ($p=0,01$).

In particolare, la variazione media della pressione diastolica dopo tre minuti di isometric hand-grip risultava sovrapponibile nei due gruppi pur con una tendenza ad una risposta ortosimpatica ridotta nel gruppo dei pazienti GBA (gruppo GBA: $9,6\pm 11,3$ mmHg; gruppo non portatori: $15,6\pm 6,5$ mmHg. $P=0,096$), inoltre il numero di pazienti con risposta patologica al test risultava significativamente più elevato nel gruppo GBA ($p=0.019$).

La variazione media della pressione diastolica dopo 90 secondi di cold pressor test risultava sovrapponibile nei due gruppi così come la variazione media della pressione sistolica dopo due minuti di mental arithmetic test (cold pressor test: $6,9 \pm 4,8$ mmHg nei pazienti GBA e $8,6 \pm 6,3$ mmHg nei pazienti non portatori; mental arithmetic test: $11,6 \pm 10,9$ mmHg nei pazienti GBA e $15,1 \pm 7,6$ mmHg nei pazienti non portatori). Tuttavia anche in questi due test il numero di pazienti con risposta ortosimpatica patologica è risultato più alto nel gruppo GBA ($p=0,045$ per il cold pressor test e $p=0,0026$ per il mental arithmetic test).

Una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi è stata inoltre trovata nel numero di pazienti con assenza di risposta ipertensiva nella fase IV della manovra di Valsalva, parametro di disfunzione ortosimpatica. In particolare tale test ha mostrato una risposta patologica nel 70% dei pazienti GBA e nel 6,66% dei pazienti non portatori di mutazioni patogene ($p<0,001$).

La presenza di denervazione ortosimpatica periferica è stata confermata da un esame di scintigrafia miocardica con tracciante MIBG in un paziente GBA con genotipo caratterizzato da mutazione L444P, che presentava una disautonomia cardiovascolare in primo piano (figura 2).

In merito ai test di valutazione della funzione parasimpatica non sono state evidenziate differenze significative tra i due gruppi per le variazioni medie della frequenza cardiaca durante i test deep breathing e hyperventilation. La Valsalva ratio è invece risultata significativamente inferiore nei pazienti del gruppo GBA ($1,49 \pm 0,3$) rispetto ai pazienti del gruppo senza mutazioni patogene ($1,7 \pm 0,3$; $p<0,0022$).

Figura 1. Frequenza in percentuale dei sintomi autonomici nel gruppo di pazienti GBA valutati con il questionario SCOPA-AUT.

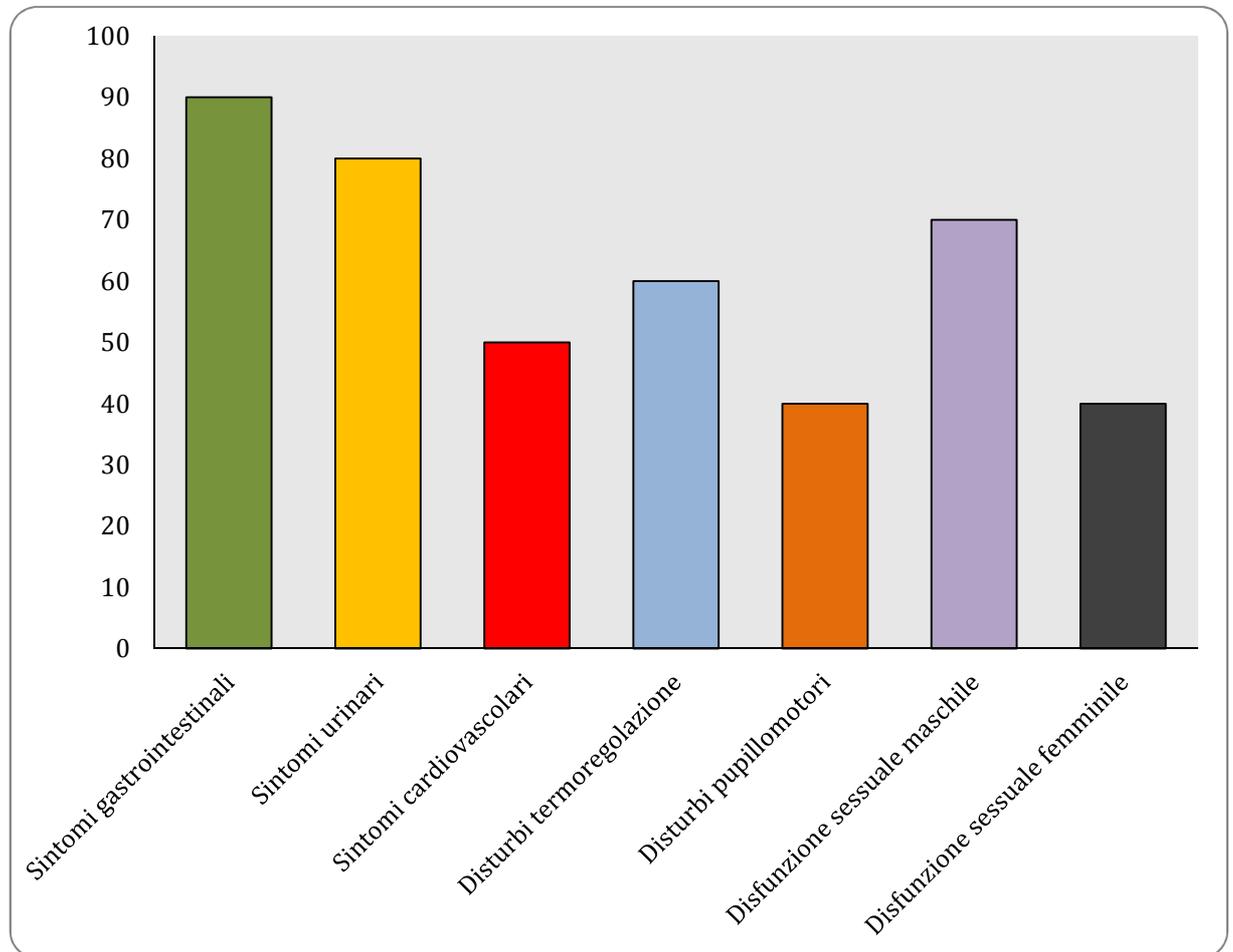
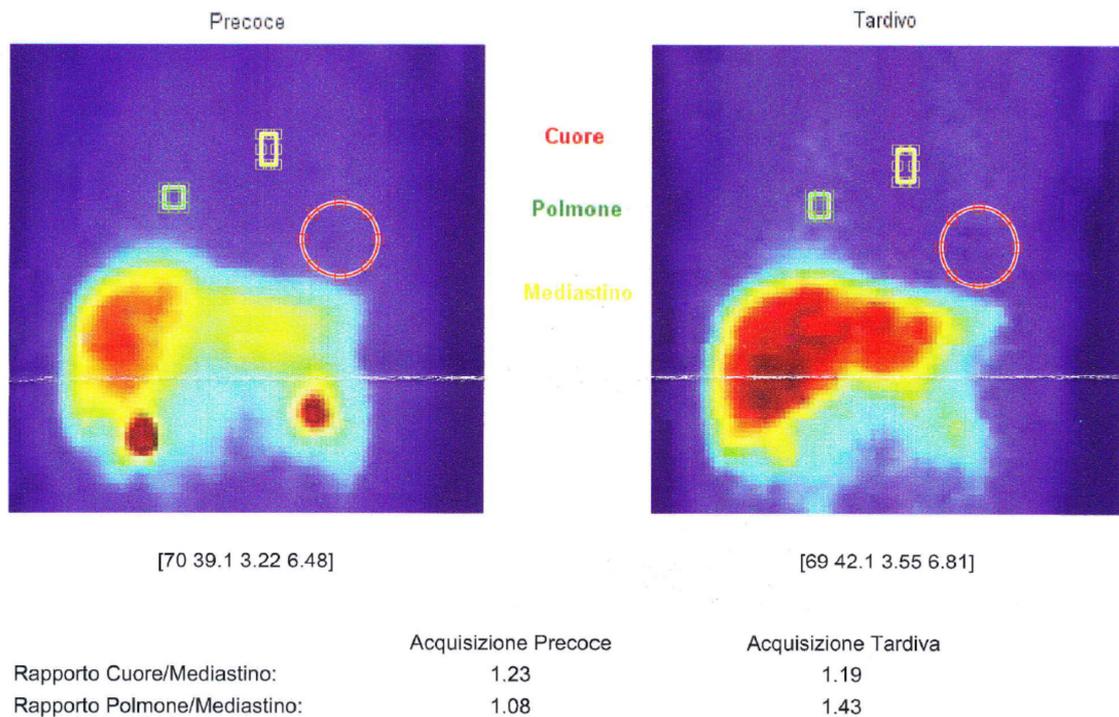


Tabella 2. Risultati dei test autonomici cardiovascolari nei pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene (variazioni medie \pm DS).

Test	Pazienti GBA	Pazienti senza mutazioni	P value
Test di funzione simpatico			
<i>Head-up tilt test 60°</i>			
• Δ PS a 2 min (mean mm Hg)	-2,4 \pm 15,0	1,6 \pm 7,3	0,37
• Δ PD a 2 min (mean mm Hg)	5,4 \pm 8,7	8,1 \pm 5,6	0,34
• Δ FC a 2 min (mean battiti/min)	11,9 \pm 7,5	12,6 \pm 7,2	0,82
• Δ PS a 5 min (mean mm Hg)	-0,7 \pm 14,3	1,3 \pm 6,2	0,63
• Δ PD a 5 min (mean mm Hg)	5,2 \pm 9,0	8,2 \pm 5,4	0,29
• Δ FC a 5 min (mean battiti/min)	13,6 \pm 6,5	10,8 \pm 6,8	0,29
<i>Standing</i>			
• Δ PS a 2 min (mean mm Hg)	2,8 \pm 7,7	7,3 \pm 7,4	0,15
• Δ PD a 2 min (mean mm Hg)	6,1 \pm 6,1	9,4 \pm 6,2	0,20
• Δ FC a 2 min (mean battiti/min)	13,5 \pm 8,2	15,2 \pm 8,2	0,62
<i>Isometric hand-grip</i>			
• Δ PS a 3 min (mean mm Hg)	15,9 \pm 14,4	20,9 \pm 11,3	0,33
• Δ PD a 3 min (mean mm Hg)	9,6 \pm 11,3	15,6 \pm 6,5	0,09
• Pazienti con risposte patologiche (%)	30,0	6,25	0,019*
<i>Skin cold</i>			
• Δ PS a 90 sec (mean mm Hg)	12,5 \pm 9,3	11,6 \pm 6,9	0,78
• Δ PD a 90 sec (mean mm Hg)	6,9 \pm 4,8	8,6 \pm 6,3	0,48
• Pazienti con risposte patologiche (%)	50,0	20,0	0,045*
<i>Mental arithmetic</i>			
• Δ PS a 2 min (mean mm Hg)	11,6 \pm 10,9	15,1 \pm 7,6	0,35
• Δ PD a 2 min (mean mm Hg)	8,4 \pm 6,9	12,0 \pm 5,9	0,17
• Pazienti con risposte patologiche (%)	60,0	6,25	0,0026*
Fase IV della Valsalva alterata (%)	70,0	6,66	0,00088*
Test di funzione parasimpatica			
Valsalva ratio	1,49 \pm 0,3	1,7 \pm 0,3	0,002*
<i>Deep breathing</i>			
• Differenza di FC a 1 min (mean battiti/min)	17,4 \pm 8,9	21,8 \pm 9,1	0,24
<i>Hyperventilation</i>			
• Δ FC a 1 min (mean battiti/min)	19,2 \pm 6,9	21,9 \pm 7,4	0,36

Abbreviazioni: Δ , variazione; PS, pressione sistolica; PD, pressione diastolica; FC, frequenza cardiaca.

Figura 2. Indagine scintigrafica cardiaca eseguita dopo 20 minuti e dopo 4 ore dalla iniezione endovena di ^{123}I -MIBG: evidenza di ridotta concentrazione del radiofarmaco a livello delle terminazioni adrenergiche miocardiche con un rapporto concentrazione miocardica/concentrazione mediastinica pari a 1,23 nell'acquisizione precoce e pari a 1,19 nell'acquisizione tardiva (valori normali > 1,6).



Studio delle funzioni cognitivo-comportamentali

Lo studio dettagliato delle funzioni cognitive e comportamentali è stato completato in una serie complessiva di 15 pazienti affetti da parkinsonismo associato a mutazioni del gene GBA e da 11 pazienti non sono risultati portatori di mutazioni patogene in geni noti.

L'età media d'esordio dei pazienti portatori di mutazione GBA era di $45,4 \pm 6,4$ anni e la durata di malattia era di $8,8 \pm 4,2$ anni. Quattro pazienti portatori di mutazione GBA presentavano la mutazione L444P allo stato eterozigote, la mutazione N370S era presente allo stato eterozigote in 11 pazienti.

L'esordio dei pazienti portatori di GBA era caratterizzato da parkinsonismo asimmetrico in 10 pazienti, mentre in 5 pazienti la malattia era iniziata con sintomi non motori (depressione, ansietà e modificazioni del carattere). All'ultima valutazione clinica disponibile 6 pazienti avevano sviluppato complicanze motorie, caratterizzate sia da scadimento di fine dose che da discinesie. I pazienti GBA assumevano una terapia dopaminergica con il dosaggio medio di $435,3 \pm 446,1$ LEDD di levodopa e di $228,6 \pm 163,8$ LEDD di terapia con dopaminoagonisti. Il rapporto complessivo F/M era di 1:1,15.

Sono stati identificati 11 pazienti affetti da malattia di Parkinson non risultati portatori di mutazioni in nessuno dei geni testati. L'età d'esordio era in media di $43,8 \pm 4,6$ anni e la durata di malattia di $6,1 \pm 3,9$ anni. In tutti i pazienti è stato riscontrato un esordio con sintomatologia motoria caratterizzato da parkinsonismo asimmetrico. All'ultima valutazione clinica disponibile 4 pazienti avevano sviluppato complicanze motorie con fenomeni ON-OFF e discinesie di picco dose. I pazienti non portatori assumevano una terapia dopaminergica con il dosaggio medio di $561,3 \pm 525,2$ LEDD di levodopa e di $140 \pm 147,7$ LEDD di terapia con dopaminoagonisti. Il rapporto complessivo F/M era di 1:2,66.

Le caratteristiche demografiche comparative dei singoli gruppi dei pazienti inclusi sono riassunte in tabella 3. Non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi nelle caratteristiche demografiche e cliniche.

Tabella 3. Dati demografici dei 26 pazienti inclusi nello studio delle funzioni cognitivo-comportamentali suddivisi nei due gruppi (pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene).

	Pazienti GBA	Pazienti non portatori	P
Numero	15	11	
Rapporto F/M	1/1,15	1/2,66	0,31
Età d'esordio (anni)	45,4 ($\pm 6,4$)	43,8 ($\pm 4,6$)	0,52
Durata di malattia (anni)	8,8 ($\pm 4,2$)	6,1 ($\pm 3,9$)	0,16
LEDD (levodopa)	435,3 ($\pm 446,1$)	561,3 ($\pm 525,2$)	0,56
LEDD (DAs)	228,6 ($\pm 163,8$)	140 ($\pm 147,7$)	0,20

Abbreviazioni: DAs, dopaminoagonisti; LEDD, levodopa equivalenti.

* Test U di Mann-Whitney

Profilo cognitivo e sintomi psichiatrici

I pazienti sono stati valutati con una batteria neuropsicologica completa come riportato nei metodi (tabella 4). Non sono state riscontrate differenze significative tra i due gruppi, ovvero tra i pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene per la malattia di Parkinson, in merito ai punteggi della scala della mania, punteggio globale cognitivo MOCA, e test delle funzioni esecutive trail making test.

Il punteggio della scala della depressione risultava significativamente più elevato nel gruppo GBA rispetto ai pazienti non portatori di mutazioni patogene per la malattia di Parkinson ($p=0,04$ test U di Mann-Whitney).

Il punteggio della scala dell'apatia risultava significativamente più elevato nel gruppo GBA rispetto ai pazienti non portatori di mutazioni patogene per la malattia di Parkinson ($p=0,04$ test U di Mann-Whitney).

Il punteggio della scala dell'impulsività (BARRETT) risultava significativamente più elevato nel gruppo GBA rispetto ai non portatori di mutazioni patogene per la malattia di Parkinson ($p=0,043$ test U di Mann-Whitney).

Il punteggio della scala dell'ansietà (punteggio STAY) risultava significativamente più elevato nel gruppo GBA rispetto ai non portatori di mutazioni patogene per la malattia di Parkinson ($p=0,008$ test U di Mann-Whitney).

Tabella 4. La tabella mostra i punteggi medi (\pm DS) delle diverse scale relative al profilo cognitivo e ai sintomi psichiatrici nei due gruppi (pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene).

	Pazienti GBA	Pazienti non portatori	p*
Depressione (BDI)	13,4 (\pm 8,2)	7,0 (\pm 4,9)	0,04*
Scala della mania	2,5 (\pm 2,2)	1,5 (\pm 1,2)	0,23
Scala della apatia	14,3 (\pm 5,3)	9,1 (\pm 5,4)	0,04*
Scala della impulsività (BARRATT)	61,2 (\pm 10,1)	52,8 (\pm 7,6)	0,043*
Scala della ansietà (STAY)	47,4 (\pm 10,3)	36,1 (\pm 6,9)	0,008*
MOCA	26,0 (\pm 2,6)	26,3 (\pm 3,1)	0,82
Trail making test (TMT B-A)	89,6 (\pm 53,4)	72,1 (\pm 64,3)	0,52

* Test U di Mann-Whitney

Profilo delle anomalie comportamentali

In merito alla frequenza di disturbi del controllo degli impulsi (figura 3) è stato rilevato che tra i pazienti portatori di mutazione nel gene GBA è più alto il numero di pazienti con punteggio di disturbo del controllo degli impulsi totale patologico (punteggio di disturbo del controllo degli impulsi clinicamente rilevante) rispetto ai non portatori ($p < 0,05$).

Inoltre, in merito ai singoli items della scala che valutano i singoli disturbi del controllo degli impulsi, è stata rilevata una alta frequenza di gioco d'azzardo, ipersessualità, shopping compulsivo, iperfagia e collezionismo tra i pazienti portatori di mutazione nel gene GBA, pur non essendo presente una differenza statisticamente significativa rispetto ai non portatori quando misurata in ogni singolo item.

Il confronto tra le medie dei punteggi della QUIP-RS calcolati nei singoli gruppi (tabella 5) mostra che i pazienti portatori di mutazioni nel gene GBA presentano valori significativamente più elevati dei punteggi di ipersessualità rispetto ai non portatori ($p = 0,04$ test U di Mann-Whitney). Inoltre nel gruppo GBA sono presenti elevati punteggi negli item dello shopping compulsivo e dell'hobbismo/collezionismo, pur non essendo presente una differenza statisticamente significativa rispetto ai controlli senza mutazioni patogene.

La sindrome disregolazione dopaminergica valutata secondo i punteggi della QUIP-RS non è stata riscontrata in nessun paziente tra i non portatori di mutazioni. Nei pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazioni GBA è stata invece riscontrata una lieve tendenza all'assunzione compulsiva di terapia (punteggio medio di $1,1 \pm 3,4/16$) con sindrome da disregolazione dopaminergica grave in un solo paziente.

Figura 3. Istogramma che riporta la frequenza dei disturbi del controllo degli impulsi nei due gruppi (pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene).

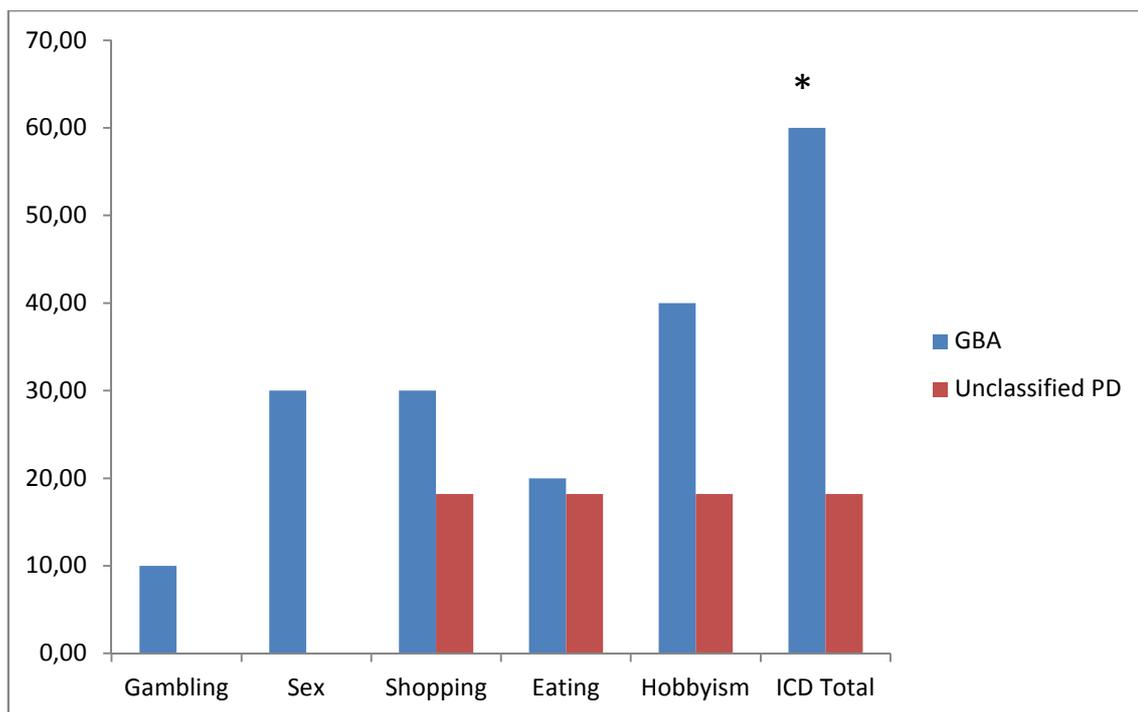


Tabella 5. Punteggi medi (\pm DS) dei singoli item della scala QUIP-RS nei due gruppi (pazienti con malattia di Parkinson con mutazione GBA e senza mutazioni patogene).

	Pazienti GBA	Pazienti non portatori	p*
Gioco d'azzardo	1,1 (\pm 2,2)	0,1 (\pm 0,4)	0,20
Ipersessualità	3,3 (\pm 4,9)	0	0,04*
Acquisti compulsivi	3,4 (\pm 3,6)	2,2 (\pm 4,6)	0,54
Iperfagia	2,8 (\pm 3,5)	2,0 (\pm 4,4)	0,65
Hobbismo/collezionismo	5,4 (\pm 4,7)	2,5 (\pm 3,9)	0,15
Assunzione compulsiva terapia	1,1 (\pm 3,4)	0	0,30
Totale	17,1 (\pm 16,0)	7,0 (\pm 11,8)	0,11

* Test U di Mann-Whitney

Discussione

Negli ultimi 15 anni l'identificazione di forme familiari ha rivelato l'importanza di fattori genetici nella patogenesi della malattia di Parkinson e di altri disturbi del movimento. La caratterizzazione fenotipica di queste forme di malattia di Parkinson ha portato all'identificazione di nuove entità nosologiche e di sottotipi omogenei di malattia di Parkinson [Elia and Albanese 2010]. La caratterizzazione fenotipica di pazienti con disturbi del movimento monogenici ha anche lo scopo di identificare protocolli diagnostici e linee guida per l'effettuazione di test diagnostici genetici, inoltre ha importanti implicazioni prognostiche di orientamento delle scelte terapeutiche (come la scelta di farmaci o la proposta di terapie chirurgiche).

L'identificazione di molteplici mutazioni genetiche che causano la malattia di Parkinson, ha dimostrato che il genotipo riveste un ruolo importante nella patogenesi della malattia. Anche se una chiara causa genetica è al momento dimostrabile solo in una minoranza di pazienti, alcune forme genetiche rappresentano cause relativamente frequenti in pazienti con familiarità positiva o esordio giovanile. In particolare, tra le mutazioni genetiche associate alla malattia di Parkinson, la forma monogenica più frequente è rappresentata dalla malattia da Parkina (PARK2) che da sola rappresenta più della metà dei casi con esordio giovanile di malattia (<40 anni) [Bonifati *et al.* 2002]. Tra i fattori di rischio genetici il gene GBA rappresenta sicuramente la causa più comune con una frequenza di circa il 5% nelle serie più ampie di malattia di Parkinson [Sidransky *et al.* 2009].

La malattia di Gaucher è una malattia autosomica recessiva da accumulo lisosomiale, causata dalla perdita di funzione dell'enzima GBA. Una recente scoperta è che i portatori di una singola mutazione eterozigote del gene GBA, che non sono affetti da malattia di Gaucher, presentano un rischio significativamente maggiore di sviluppare malattia di Parkinson [Sidransky *et al.* 2009]. Queste scoperte hanno generato un notevole interesse verso la ricerca mirata a chiarire il rapporto tra il gene GBA e le caratteristiche fenotipiche delle sindromi parkinsoniane.

I dati clinici dei pazienti parkinsoniani che portano mutazioni del gene GBA sono scarse, in particolare per quanto riguarda le caratteristiche non-motorie. Il quadro clinico è stato descritto come simile nei pazienti portatori di mutazioni GBA e non

portatori, anche se i pazienti portatori di mutazioni GBA hanno una frequenza più bassa di insorgenza asimmetrica, tremore a riposo/bradicinesia, e una più giovane età di esordio [Sidransky et al. 2009] [Aharon-Peretz *et al.* 2005]. Studi preliminari suggeriscono che la sintomatologia non-motoria possa essere molto comune nei pazienti con mutazione del gene GBA [Neumann, Bras, Deas, O'Sullivan, Parkkinen, Lachmann, Li, Holton, Guerreiro, Paudel, Segarane, Singleton, Lees, Hardy, Houlden, Revesz, and Wood2009] e, in particolare, può essere presente una più alta frequenza di sintomi cognitivi [Sidransky et al. 2009]. Mentre, invece, le caratteristiche autonome non sono state mai studiate in dettaglio, a parte l'indicazione che l'ipotensione ortostatica appare con la stessa frequenza nei pazienti portatori e nei non portatori di mutazioni GBA [Sidransky et al. 2009].

In questo studio, pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene GBA sono stati sottoposti ad una valutazione dettagliata dei sintomi non-motori, in confronto con una serie di pazienti non portatori di mutazioni patogene per la malattia di Parkinson.

Dalla valutazione dei test autonomi cardiovascolari è emerso che nei pazienti GBA positivi è presente una più elevata frequenza di disfunzioni ortosimpatiche. Tale dato può dipendere da una maggiore progressione di malattia con più rilevante coinvolgimento dei gangli autonomi ortosimpatici così come osservato nelle malattie da corpi di Lewy diffusi [Stubendorff *et al.* 2012]. Mutazioni del gene GBA sono state infatti associate ad uno spettro di fenotipi parkinsoniani che hanno aspetti compatibili con il caratteristico fenotipo della demenza con corpi di Lewy [Goker-Alpan *et al.* 2008]. Inoltre, un'alta prevalenza di mutazioni GBA è stata segnalata tra i pazienti con demenza con corpi di Lewy definita su base neuropatologica [Goker-Alpan, Lopez, Vithayathil, Davis, Hallett, and Sidransky2008] e su questa base è stato proposto che il riscontro di mutazioni del gene GBA rappresenti un fattore di rischio per la diffusione dei Lewy nel sistema nervoso centrale [Clark *et al.* 2009].

La valutazione della scala SCOPA-AUT ha inoltre evidenziato che in questi pazienti è presente una sintomatologia autonoma multisistemica con rilevanti sintomi di disfunzione gastrointestinale, genito-urinari e della termoregolazione oltre che ai sintomi cardiovascolari. Questo dato depone per una diffusione dei corpi di Lewy in più

distretti autonomici come si vede in un'altra sinucleinopatia da corpi di Lewy con pandisautonomia come la disautonomia primaria cronica progressiva [Hague *et al.* 1997].

Il nostro studio ha inoltre mostrato che la scintigrafia miocardica con tracciante MIBG presenta denervazione ortosimpatica periferica post-gangliare nei pazienti GBA. Ciò è osservato nella grande maggioranza dei pazienti con malattia di Parkinson sporadica in cui il processo patologico colpisce anche il sistema nervoso autonomo periferico [Orimo, Ozawa, Nakade, Sugimoto, and Mizusawa 1999; Pfeiffer 1998]. Anche alcune forme genetiche di malattia di Parkinson, come quelle da mutazione dei geni SNCA e LRRK2, mostrano alterazioni del sistema nervoso autonomo, soprattutto caratterizzate da denervazione simpatica cardiaca [Goldstein *et al.* 2007; Polymeropoulos *et al.* 1997]. Tali dati che mostrano un coinvolgimento diffuso del sistema nervoso autonomo periferico nel parkinsonismo associato a GBA sono in linea con un recentissimo studio che ha dimostrato come sia i corpi di Lewy che la denervazione cardiaca erano presenti in un paziente con malattia di Gaucher associata a parkinsonismo, utilizzando rispettivamente la biopsia del colon e la scintigrafia miocardica con 123I-MIBG [Lebouvier *et al.* 2014]. Tali scoperte hanno una implicazione sulla patofisiologia del parkinsonismo associato a mutazioni GBA che può essere associato alle malattie da corpi di Lewy e caratterizzato da una maggiore diffusione autonoma dei corpi di Lewy.

Nel nostro studio, che non ha incluso pazienti con gravi disfunzioni cognitive o demenza, abbiamo riscontrato che i pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene GBA sono caratterizzati anche da più alti punteggi nella scala della apatia rispetto ai non portatori. Una possibile spiegazione è che nel gruppo GBA l'apatia rappresenti un sintomo precoce in pazienti con maggior rischio di comparsa successiva di deficit cognitivi. Tale dato è in linea con precedenti studi in cui l'apatia è stata riconosciuta come un sintomo precoce in pazienti affetti da demenza degenerativa [Stella *et al.* 2014].

Il presente studio ha inoltre mostrato come i pazienti con malattia di Parkinson portatori di mutazioni nel gene GBA presentavano maggiore frequenza di depressione e ansia rispetto ai pazienti non portatori. Questo dato suggerisce che anche questi

disturbi psichiatrici nei pazienti GBA siano un sintomo prodromico in pazienti con rischio aumentato di sviluppare demenza. Infatti, la demenza con copri di Lewy può inizialmente esordire con sintomi non cognitivi ma psichiatrici, come la depressione e l'ansia. Studi retrospettivi hanno trovato che l'ansia e la depressione esordivano prima o in concomitanza con l'esordio del deficit di memoria in un quarto dei casi con demenza con copri di Lewy [Auning *et al.* 2011]. Studi caso-controllo retrospettivi hanno scoperto che una storia di depressione prima della diagnosi di demenza è più comune nella demenza con copri di Lewy rispetto alla malattia di Alzheimer [Boot *et al.* 2013].

Il nostro studio ha mostrato anche che i pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazione del gene GBA presentavano maggiore frequenza di disturbi del controllo degli impulsi rispetto ai pazienti non portatori. In particolare in relazione ai punteggi di ipersessualità, shopping compulsivo e hobbismo/collezionismo. Questi risultati suggeriscono un possibile ruolo delle mutazioni del gene GBA nel favorire la comparsa di disturbi comportamentali nel complesso di una più ampia sindrome non motoria. E' interessante sottolineare a tal proposito che in precedenti studi è stato dimostrato che i pazienti affetti da malattia di Parkinson con disturbi del controllo degli impulsi, valutati attraverso batterie neuropsicologiche standard, presentano alterazione in diversi domini cognitivi, incluse le capacità del lobo frontale e l'organizzazione spaziale, se confrontati con pazienti con malattia di Parkinson senza disturbi del controllo degli impulsi [Weintraub and Nirenberg 2013]. Tali riscontri portano ad ipotizzare un ruolo dei meccanismi di alterazione delle funzioni di inibizione frontale nel determinare lo sviluppo dei disturbi del comportamento [Vitale *et al.* 2011].

Conclusioni

In conclusione il nostro studio ha mostrato che i pazienti affetti da malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene GBA possono esprimere una sintomatologia non-motoria multidominio con sintomi autonomici, cognitivi e comportamentali in primo piano. Pertanto l'impostazione terapeutica in questi pazienti dovrebbe includere una accurata valutazione dei sintomi non-motori e un loro monitoraggio nel follow up clinico, allo scopo di ottimizzare i risultati e ridurre i rischi di complicazioni. Studi multicentrici su casistiche molto ampie e di lungo follow up sono attesi per definire con maggiore precisione il profilo clinico di questi pazienti.

Infine, tale studio supporta il recente orientamento della ricerca che parametri clinici multimodali, quali quelli genetici, autonomici, lievi disfunzioni cognitivo-comportamentali oltre che biochimici e di neuroimaging, possano predire il rischio di demenza nella malattia di Parkinson e allo stesso tempo possano fornire importanti informazioni diagnostiche e prognostiche.

Bibliografia

Assessment: Clinical autonomic testing report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 1996; 46: 873-880.

Aarsland D, Kurz MW. The epidemiology of dementia associated with Parkinson disease. *J Neurol Sci* 2010; 289: 18-22.

Abou-Sleiman PM, Healy DG, Quinn N, Lees AJ, Wood NW. The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54: 283-286.

Aharon-Peretz J, Badarny S, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson disease: phenotype-genotype correlation. *Neurology* 2005; 65: 1460-1461.

Ahn TB, Kim SY, Kim JY *et al.* alpha-Synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008; 70: 43-49.

Albanese A, Valente EM, Romito LM, Bellacchio E, Elia AE, Dallapiccola B. The PINK1 phenotype can be indistinguishable from idiopathic Parkinson disease. *Neurology* 2005a; 64: 1958-1960.

Albanese A, Valente EM, Romito LM, Bellacchio E, Elia AE, Dallapiccola B. The PINK1 phenotype can be indistinguishable from idiopathic Parkinson disease. *Neurology* 2005b; 64: 1958-1960.

Alcalay RN, Caccappolo E, Mejia-Santana H *et al.* Cognitive performance of GBA mutation carriers with early-onset PD: the CORE-PD study. *Neurology* 2012; 78: 1434-1440.

Athey RJ, Porter RW, Walker RW. Cognitive assessment of a representative community population with Parkinson's disease (PD) using the Cambridge Cognitive Assessment-Revised (CAMCOG-R). *Age Ageing* 2005; 34: 268-273.

Auning E, Rongve A, Fladby T *et al.* Early and presenting symptoms of dementia with lewy bodies. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2011; 32: 202-208.

Barbeau A, Roy M, Cloutier T. Smoking, cancer, and Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1986; 20: 105-106.

Benamer TS, Patterson J, Grosset DG *et al.* Accurate differentiation of parkinsonism and essential tremor using visual assessment of [123I]-FP-CIT SPECT imaging: the [123I]-FP-CIT study group. *Mov Disord* 2000; 15: 503-510.

Bonifati V, Dekker MC, Vanacore N *et al.* Autosomal recessive early onset parkinsonism is linked to three loci: PARK2, PARK6, and PARK7. *Neurol Sci* 2002; 23 Suppl 2: S59-S60.

Boot BP, Orr CF, Ahlskog JE *et al.* Risk factors for dementia with Lewy bodies: a case-control study. *Neurology* 2013; 81: 833-840.

Braak H, Del TK, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 197-211.

Braune S, Auer A, Schulte-Monting J, Schwerbrock S, Lucking CH. Cardiovascular parameters: sensitivity to detect autonomic dysfunction and influence of age and sex in normal subjects. *Clin Auton Res* 1996; 6: 3-15.

Braune S, Reinhardt M, Schnitzer R, Riedel A, Lucking CH. Cardiac uptake of [123I]MIBG separates Parkinson's disease from multiple system atrophy. *Neurology* 1999; 53: 1020-1025.

Brockmann K, Srulijes K, Hauser AK *et al.* GBA-associated PD presents with nonmotor characteristics. *Neurology* 2011; 77: 276-280.

Chartier-Harlin MC, Dachsel JC, Vilarino-Guell C *et al.* Translation initiator EIF4G1 mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2011; 89: 398-406.

Chaudhuri KR, Yates L, Martinez-Martin P. The non-motor symptom complex of Parkinson's disease: a comprehensive assessment is essential. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2005; 5: 275-283.

Clark LN, Kartsaklis LA, Wolf GR *et al.* Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with lewy bodies. *Arch Neurol* 2009; 66: 578-583.

Corazza I, Barletta G, Guaraldi P *et al.* A new integrated instrumental approach to autonomic nervous system assessment. *Comput Methods Programs Biomed* 2014; 117: 267-276.

Cox TM, Schofield JP. Gaucher's disease: clinical features and natural history. *Baillieres Clin Haematol* 1997; 10: 657-689.

Critchley HD, Corfield DR, Chandler MP, Mathias CJ, Dolan RJ. Cerebral correlates of autonomic cardiovascular arousal: a functional neuroimaging investigation in humans. *J Physiol* 2000; 523 Pt 1: 259-270.

Dalrymple-Alford JC, MacAskill MR, Nakas CT *et al.* The MoCA: well-suited screen for cognitive impairment in Parkinson disease. *Neurology* 2010; 75: 1717-1725.

de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006; 5: 525-535.

De Marco EV, Annesi G, Tarantino P *et al.* Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in southern Italy. *Mov Disord* 2008; 23: 460-463.

Del Sorbo F., Elia AE, De JG, Romito LM, Garavaglia B, Albanese A. Normal cardiovascular reflex testing in patients with parkin disease. *Mov Disord* 2007; 22: 528-532.

Di Fonzo A., Rohe CF, Ferreira J *et al.* A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *Lancet* 2005; 365: 412-415.

Eckberg DL. Parasympathetic cardiovascular control in human disease: a critical review of methods and results. *Am J Physiol* 1980; 239: H581-H593.

Elia AE, Albanese A. Emerging parkinsonian phenotypes. *Rev Neurol (Paris)* 2010; 166: 834-840.

Elia AE, Del SF, Romito LM, Barzaghi C, Garavaglia B, Albanese A. Isolated limb dystonia as presenting feature of Parkin disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014; 85: 827-828.

Elia AE, Petrucci S, Fasano A *et al.* Alpha-synuclein gene duplication: marked intrafamilial variability in two novel pedigrees. *Mov Disord* 2013; 28: 813-817.

Farrer M, Kachergus J, Forno L *et al.* Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol* 2004; 55: 174-179.

- Filocamo M, Mazzotti R, Stroppiano M *et al.* Analysis of the glucocerebrosidase gene and mutation profile in 144 Italian gaucher patients. *Hum Mutat* 2002; 20: 234-235.
- Forjaz MJ, Ayala A, Rodriguez-Blazquez C, Frades-Payo B, Martinez-Martin P. Assessing autonomic symptoms of Parkinson's disease with the SCOPA-AUT: a new perspective from Rasch analysis. *Eur J Neurol* 2010; 17: 273-279.
- Foroud T, Uniacke SK, Liu L *et al.* Heterozygosity for a mutation in the parkin gene leads to later onset Parkinson disease. *Neurology* 2003; 60: 796-801.
- Fowler CJ. Urinary disorders in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Funct Neurol* 2001; 16: 277-282.
- Freeman R, Wieling W, Axelrod FB *et al.* Consensus statement on the definition of orthostatic hypotension, neurally mediated syncope and the postural tachycardia syndrome. *Clin Auton Res* 2011; 21: 69-72.
- Fu Q, Levine BD, Pawelczyk JA *et al.* Cardiovascular and sympathetic neural responses to handgrip and cold pressor stimuli in humans before, during and after spaceflight. *J Physiol* 2002; 544: 653-664.
- Galloway NT. Urethral sphincter abnormalities in Parkinsonism. *Br J Urol* 1983; 55: 691-693.
- Gasser T. Update on the genetics of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2007; 22 Suppl 17: S343-S350.
- Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999; 56: 33-39.
- Goker-Alpan O, Lopez G, Vithayathil J, Davis J, Hallett M, Sidransky E. The spectrum of parkinsonian manifestations associated with glucocerebrosidase mutations. *Arch Neurol* 2008; 65: 1353-1357.
- Goldstein DS. Dysautonomia in Parkinson's disease: neurocardiological abnormalities. *Lancet Neurol* 2003; 2: 669-676.
- Goldstein DS, Holmes C, Li ST, Bruce S, Metman LV, Cannon RO, III. Cardiac sympathetic denervation in Parkinson disease. *Ann Intern Med* 2000; 133: 338-347.
- Goldstein DS, Imrich R, Peckham E *et al.* Neurocirculatory and nigrostriatal abnormalities in Parkinson disease from LRRK2 mutation. *Neurology* 2007; 69: 1580-1584.
- Goldstein DS, Robertson D, Esler M, Straus SE, Eisenhofer G. Dysautonomias: clinical disorders of the autonomic nervous system. *Ann Intern Med* 2002; 137: 753-763.
- Gwinn-Hardy K, Mehta ND, Farrer M *et al.* Distinctive neuropathology revealed by alpha-synuclein antibodies in hereditary parkinsonism and dementia linked to chromosome 4p. *Acta Neuropathol* 2000; 99: 663-672.
- Hague K, Lento P, Morgello S, Caro S, Kaufmann H. The distribution of Lewy bodies in pure autonomic failure: autopsy findings and review of the literature. *Acta Neuropathol* 1997; 94: 192-196.

- Hely MA, Reid WG, Adena MA, Halliday GM, Morris JG. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord* 2008; 23: 837-844.
- Higginson CI, Lanni K, Sigvardt KA, Disbrow EA. The contribution of trail making to the prediction of performance-based instrumental activities of daily living in Parkinson's disease without dementia. *J Clin Exp Neuropsychol* 2013; 35: 530-539.
- Hobson P, Meara J. Risk and incidence of dementia in a cohort of older subjects with Parkinson's disease in the United Kingdom. *Mov Disord* 2004; 19: 1043-1049.
- Hughes AJ, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. *Neurology* 1992; 42: 1142-1146.
- Iwanaga K, Wakabayashi K, Yoshimoto M *et al.* Lewy body-type degeneration in cardiac plexus in Parkinson's and incidental Lewy body diseases. *Neurology* 1999; 52: 1269-1271.
- Jost WH. Autonomic dysfunctions in idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol* 2003; 250 Suppl 1: I28-I30.
- Kachergus J, Mata IF, Hulihan M *et al.* Identification of a novel LRRK2 mutation linked to autosomal dominant parkinsonism: evidence of a common founder across European populations. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 672-680.
- Kenny RA, Kalaria R, Ballard C. Neurocardiovascular instability in cognitive impairment and dementia. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 977: 183-195.
- Khan NL, Graham E, Critchley P *et al.* Parkin disease: a phenotypic study of a large case series. *Brain* 2003; 126: 1279-1292.
- Khan NL, Jain S, Lynch JM *et al.* Mutations in the gene LRRK2 encoding dardarin (PARK8) cause familial Parkinson's disease: clinical, pathological, olfactory and functional imaging and genetic data. *Brain* 2005; 128: 2786-2796.
- Kim JS, Oh YS, Lee KS, Kim YI, Yang DW, Goldstein DS. Association of cognitive dysfunction with neurocirculatory abnormalities in early Parkinson disease. *Neurology* 2012; 79: 1323-1331.
- Kitada T, Asakawa S, Hattori N *et al.* Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998; 392: 605-608.
- Kraoua I, Stirnemann J, Ribeiro MJ *et al.* Parkinsonism in Gaucher's disease type 1: ten new cases and a review of the literature. *Mov Disord* 2009; 24: 1524-1530.
- Lebouvier T, Clairembault T, Devos D *et al.* Peripheral autonomic nervous system involvement in Gaucher-related parkinsonism. *J Parkinsons Dis* 2014; 4: 29-32.
- Low PA. Laboratory evaluation of autonomic failure. In: Low PA, editor. *Clinical Autonomic Disorders: Evaluation and Management*. Boston, Little, Brown & Co; 1993. p. 169-97.
- Lucking CB, Durr A, Bonifati V *et al.* Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med* 2000; 342: 1560-1567.
- Magerkurth C, Schnitzer R, Braune S. Symptoms of autonomic failure in Parkinson's disease: prevalence and impact on daily life. *Clin Auton Res* 2005; 15: 76-82.

- Marteau TM, Bekker H. The development of a six-item short-form of the state scale of the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI). *Br J Clin Psychol* 1992; 31 (Pt 3): 301-306.
- Martins AM, Valadares ER, Porta G *et al.* Recommendations on diagnosis, treatment, and monitoring for Gaucher disease. *J Pediatr* 2009; 155: S10-S18.
- Mathias CJ. Autonomic diseases: clinical features and laboratory evaluation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74 Suppl 3: iii31-iii41.
- Mathias CJ, Bannister R. Investigations of autonomic disorders. In: Mathias CJ, Bannister R, editors. Oxford University Press; 1999. p. 165-9.
- Meivar-Levy I, Horowitz M, Futerman AH. Analysis of glucocerebrosidase activity using N-(1-[14C]hexanoyl)-D-erythroglucosylsphingosine demonstrates a correlation between levels of residual enzyme activity and the type of Gaucher disease. *Biochem J* 1994; 303 (Pt 2): 377-382.
- Mieli G, Tassorelli C, Martignoni E *et al.* Disordered pupil reactivity in Parkinson's disease. *Clin Auton Res* 1991; 1: 55-58.
- Nagai M, Hoshida S, Ishikawa J, Shimada K, Kario K. Ambulatory blood pressure as an independent determinant of brain atrophy and cognitive function in elderly hypertension. *J Hypertens* 2008; 26: 1636-1641.
- Naschitz JE, Mussafia-Priselac R, Kovalev Y *et al.* Nonspecific dizziness: frequency of supine hypertension associated with hypotensive reactions on head-up tilt. *J Hum Hypertens* 2006; 20: 157-162.
- Neumann J, Bras J, Deas E *et al.* Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain* 2009; 132: 1783-1794.
- Nichols WC, Pankratz N, Hernandez D *et al.* Genetic screening for a single common LRRK2 mutation in familial Parkinson's disease. *Lancet* 2005; 365: 410-412.
- Nishimura RA, Tajik AJ. The Valsalva maneuver and response revisited. *Mayo Clin Proc* 1986; 61: 211-217.
- Oka H, Mochio S, Onouchi K, Morita M, Yoshioka M, Inoue K. Cardiovascular dysautonomia in de novo Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2006; 241: 59-65.
- Orimo S, Amino T, Yokochi M *et al.* Preserved cardiac sympathetic nerve accounts for normal cardiac uptake of MIBG in PARK2. *Mov Disord* 2005; 20: 1350-1353.
- Orimo S, Ozawa E, Nakade S, Sugimoto T, Mizusawa H. (123)I-metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67: 189-194.
- Patton JH, Stanford MS, Barratt ES. Factor structure of the Barratt impulsiveness scale. *J Clin Psychol* 1995; 51: 768-774.
- Peralta C, Stampfer-Kountchev M, Karner E *et al.* Orthostatic hypotension and attention in Parkinson's disease with and without dementia. *J Neural Transm* 2007; 114: 585-588.
- Pfeiffer RF. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Clin Neurosci* 1998; 5: 136-146.

Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy body. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 183-191.

Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E *et al.* Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045-2047.

Ravits JM. AAEM minimonograph #48: autonomic nervous system testing. *Muscle Nerve* 1997; 20: 919-937.

Romito LM, Contarino MF, Vanacore N, Bentivoglio AR, Scerrati M, Albanese A. Replacement of dopaminergic medication with subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: long-term observation. *Mov Disord* 2009; 24: 557-563.

Sakakibara R, Tateno F, Nagao T *et al.* Bladder function of patients with Parkinson's disease. *Int J Urol* 2014; 21: 638-646.

Sambati L, Calandra-Buonaura G, Poda R, Guaraldi P, Cortelli P. Orthostatic hypotension and cognitive impairment: a dangerous association? *Neurol Sci* 2014; 35: 951-957.

Schrag A, Barone P, Brown RG *et al.* Depression rating scales in Parkinson's disease: critique and recommendations. *Mov Disord* 2007; 22: 1077-1092.

Senard JM, Rai S, Lapeyre-Mestre M *et al.* Prevalence of orthostatic hypotension in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 63: 584-589.

Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO *et al.* Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 1651-1661.

Singer C, Weiner WJ, Sanchez-Ramos JR. Autonomic dysfunction in men with Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1992; 32: 134-140.

Singleton AB, Farrer M, Johnson J *et al.* alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003; 302: 841.

Sironi F, Primignani P, Ricca S *et al.* DJ1 analysis in a large cohort of Italian early onset Parkinson Disease patients. *Neurosci Lett* 2013; 557 Pt B: 165-170.

Spatola M, Wider C. Genetics of Parkinson's disease: the yield. *Parkinsonism Relat Disord* 2014; 20 Suppl 1: S35-S38.

Stella F, Radanovic M, Arahamian I, Canineu PR, de Andrade LP, Forlenza OV. Neurobiological correlates of apathy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a critical review. *J Alzheimers Dis* 2014; 39: 633-648.

Stubendorff K, Aarsland D, Minthon L, Londos E. The impact of autonomic dysfunction on survival in patients with dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia. *PLoS One* 2012; 7: e45451.

Tomiyama H, Li Y, Funayama M *et al.* Clinicogenetic study of mutations in LRRK2 exon 41 in Parkinson's disease patients from 18 countries. *Mov Disord* 2006; 21: 1102-1108.

Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH *et al.* Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 895-900.

- van Duijn CM, Dekker MC, Bonifati V *et al.* Park7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 629-634.
- Velayati A, Yu WH, Sidransky E. The role of glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease and Lewy body disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2010; 10: 190-198.
- Visser M, Marinus J, Stiggelbout AM, Van Hilten JJ. Assessment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease: the SCOPA-AUT. *Mov Disord* 2004; 19: 1306-1312.
- Vitale C, Santangelo G, Trojano L *et al.* Comparative neuropsychological profile of pathological gambling, hypersexuality, and compulsive eating in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2011; 26: 830-836.
- Weintraub D, Mamikonyan E, Papay K, Shea JA, Xie SX, Siderowf A. Questionnaire for Impulsive-Compulsive Disorders in Parkinson's Disease-Rating Scale. *Mov Disord* 2012; 27: 242-247.
- Weintraub D, Nirenberg MJ. Impulse control and related disorders in Parkinson's disease. *Neurodegener Dis* 2013; 11: 63-71.
- Wider C, Skipper L, Solida A *et al.* Autosomal dominant dopa-responsive parkinsonism in a multigenerational Swiss family. *Parkinsonism Relat Disord* 2008; 14: 465-470.
- Wong K, Sidransky E, Verma A *et al.* Neuropathology provides clues to the pathophysiology of Gaucher disease. *Mol Genet Metab* 2004; 82: 192-207.
- Yamamura Y, Hattori N, Matsumine H, Kuzuhara S, Mizuno Y. Autosomal recessive early-onset parkinsonism with diurnal fluctuation: clinicopathologic characteristics and molecular genetic identification. *Brain Dev* 2000; 22 Suppl 1: S87-S91.
- Yap PL, Niti M, Yap KB, Ng TP. Orthostatic hypotension, hypotension and cognitive status: early comorbid markers of primary dementia? *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008; 26: 239-246.
- York MK, Dulay M, Macias A *et al.* Cognitive declines following bilateral subthalamic nucleus deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 789-795.