

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE,
CLINICHE E SPERIMENTALI
INDIRIZZO: NEUROSCIENZE
CICLO:XXV

**La valutazione della via motoria corticobulbare nella
Sclerosi Laterale Amiotrofica: uno studio mediante
Potenziali Evocati Motori da muscolo Trapezio capo
superiore (metodo diretto).**

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

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

Supervisore :Ch.mo Prof. Corrado Angelini

Dottorando : Dott. Marcello Ferullo

...A mia madre

INDICE

Abstract.....	p. 7
Riassunto.....	p. 9
1. INTRODUZIONE ALLA SLA	
1.1 Generalità	p. 11
1.2 Eziopatogenesi e fattori di rischio	p. 19
1.3 Dati epidemiologici	p. 21
1.4 Clinica e suddivisione in sottotipi clinici	p. 27
1.5 Diagnosi e criteri diagnostici	p. 27
2. TECNICHE DI INDAGINE NEUROFISIOLOGICHE	
2.1 Lo studio del II motoneurone: l'EMG	p. 32
2.2 Lo studio del I motoneurone: i PEM.....	p. 39
a) Basi Tecniche	p. 39
b) Cenni Storici	p. 41
c) Metodologia	p. 44
d) I PEM nella SLA.....	p. 49

3. OBIETTIVI DELLO STUDIO	p. 56
4. MATERIALE E METODI	
a) Strumentazione e tecniche utilizzate	p. 59
b) Popolazione in studio	p. 61
c) Suddivisione del campione in sottotipi Classificazione secondo El Escorial	p. 62
5. RISULTATI	p. 65
5.1 Dati Normativi.....	p. 65
5.2 Gruppo SLA bulbare.....	p. 67
5.3 Gruppo SLA tipica.....	p. 69
5.4 Analisi del TCMC.....	p. 71
5.5 Rapporto Ampiezza Stim.Corticale/Perif....	p. 74
5.6 Rappresentazione dei Limiti di confidenza..	p. 76
6. DISCUSSIONE	p. 89
7. CONCLUSIONI	p. 92
BIBLIOGRAFIA	p. 94

**Evaluation of the motor corticobulbar tract in
amyotrophic lateral sclerosis: a study using Motor-
Evoked Potentials from the upper trapezius muscle
(direct method).**

Abstract

Neurophysiology currently occupies a leading role in the diagnosis and monitoring of patients affected by Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS).

Electromyography (EMG) is very useful to determine the involvement of the lower motor neuron, while Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) is the most appropriate technique for studying the upper motor neuron.

It is notoriously difficult to evaluate the bulbar district to examine the lower motor neuron and the upper motor neuron. Here report a series of 55 patients affected by various clinical subtypes of ALS examined by MEP derived from the upper trapezius muscle (direct method).

The results show a great sensitivity in diagnosing the progressive bulbar palsy (PBP) clinical subtype, whereas a standard study with derivation from the lower limbs is more useful in the typical form of ALS.

Moreover, we show a more rigorous method of calculating central motor conduction time, in addition to an evaluation of

the ratio between the amplitudes of the cortical and peripheral stimulus, obtained by the direct method.

La valutazione della via motoria corticobulbare nella Sclerosi Laterale Amiotrofica: uno studio mediante Potenziali Evocati Motori da muscolo Trapezio capo superiore (metodo diretto).

Riassunto

La Neurofisiologia attualmente occupa un ruolo di primo piano nella diagnosi e nel monitoraggio della Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA).

L'elettromiografia è molto utile per determinare un coinvolgimento del II neurone di moto, mentre la TMS è la tecnica più utile per lo studio del I motoneurone.

Tra i vari muscoli esaminabili l'esplorazione del distretto bulbare è sempre stata più difficoltosa da esaminare sia per lo studio del II motoneurone, sia, quando, oggetto della nostra valutazione diviene il primo motoneurone.

Riportiamo qui uno studio su 55 pazienti con vari sottotipi clinici di SLA esaminati mediante PEM con derivazione dal muscolo trapezio capo superiore (metodo diretto).

I risultati ottenuti mostrano una grande sensibilità diagnostica nel sottotipo clinico paralisi bulbare progressiva (PSP), mentre nella forma SLA tipica risulta più utile uno studio standard derivato dagli arti inferiori.

Vengono illustrati anche un più rigoroso metodo di calcolo del tempo di conduzione motoria centrale oltre alla valutazione del rapporto d'ampiezza tra lo stimolo corticale e quello periferico ottenuto sempre con metodo diretto.

1. INTRODUZIONE ALLA SLA

1.1 Generalità

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa ad andamento progressivo, che colpisce i neuroni motori della corteccia, del tronco cerebrale e del midollo spinale: essa rappresenta la principale patologia nel gruppo definito come malattia del motoneurone.

In questa malattia, il sistema motorio è colpito in modo selettivo: infatti sono coinvolti i motoneuroni che controllano i movimenti volontari, e generalmente risparmiati i muscoli oculomotori, il sistema sensitivo in generale, le funzioni viscerali e le capacità cognitive.

La perdita dei motoneuroni superiore (UMN) ed inferiore (LMN) partecipano, in misura variabile di soggetto in soggetto, a determinare sintomi e segni del paziente.

Nella figura 1 sono rappresentati sia i neuroni di moto della corteccia cerebrale che quelli il cui corpo cellulare è localizzato nelle corna anteriori del midollo spinale e nei nuclei somatici dei nervi cranici all'interno del tronco encefalico .

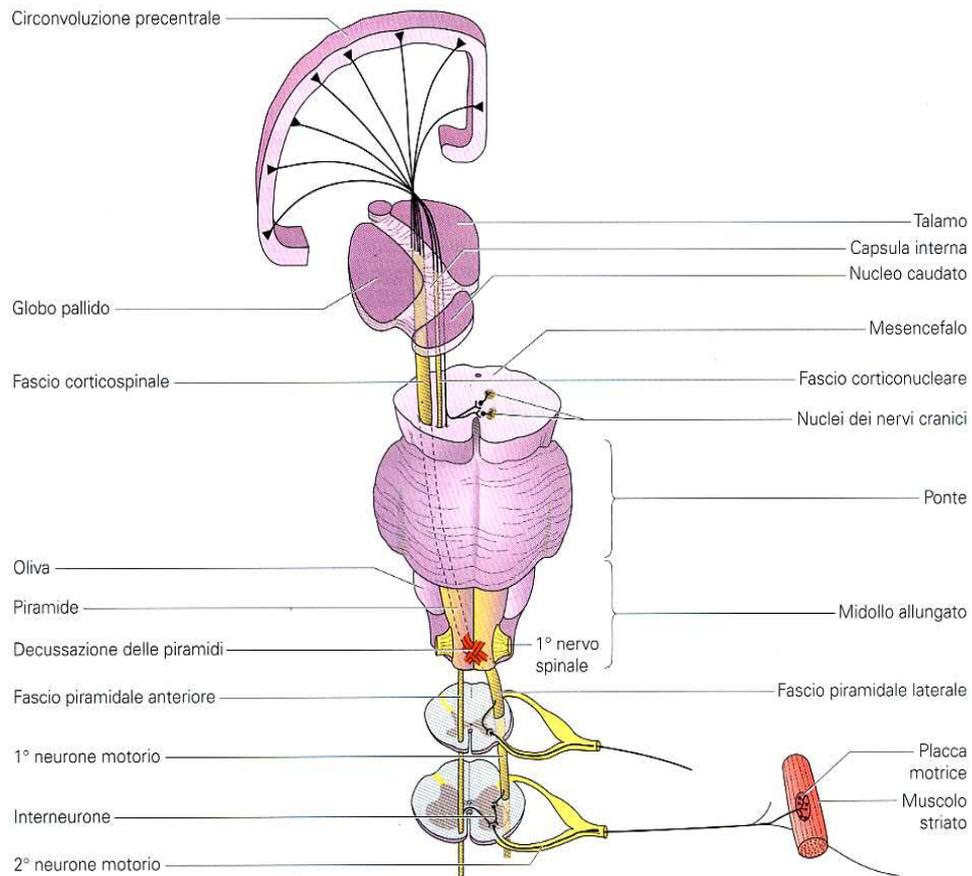


Fig. 1. Primo (UMN) e secondo motoneurone (LMN).

Il coinvolgimento del I e/o del II motoneurone si manifesta con progressione in una variabile combinazione topografica e temporale: ecco come alcuni segni o sintomi espressione di lesione del II motoneurone (quali atrofia muscolare, ipostenia, fascicolazioni, ROT torpidi od assenti etc...) possono associarsi a sintomi e segni espressione di lesione del I motoneurone (quali spasticità, labilità emotiva, ROT vivaci o scattanti, segno di Babinski, etc...).

Per un certo periodo i motoneuroni superstiti hanno la capacità di supplire, almeno in parte, alle funzioni di quelli distrutti, e quindi i primi segni della malattia compaiono solo quando la perdita progressiva dei motoneuroni supera la capacità di compensazione dei motoneuroni superstiti.

La perdita dei motoneuroni corticali porta progressivamente ad una degenerazione assonale del tratto cortico-spinale che decorre nelle colonne laterali del midollo spinale creando così un'area cicatriziale nella parte laterale del midollo detta **sclerosi**.

La perdita dei motoneuroni spinali porta anch'essa ad una degenerazione assonale inesorabile tale da impedire progressivamente alle fibrocellule muscolari innervate di generare il movimento .

Più motoneuroni muoiono più il muscolo innervato diviene **amiotrofico** ossia malnutrito (da cui il nome di Sclerosi Laterale Amiotrofica).

I motoneuroni superstiti sono generalmente atrofici, e spesso presentano anomali accumuli di neurofilamenti (Corpi di Lewy), sia a livello del corpo cellulare sia a livello dell'assone. Queste alterazioni neuronali sono associate all'astrogliosi reattiva, che accompagna qualsiasi alterazione degenerativa del sistema nervoso interessando le fibre dei fasci piramidali che decorrono nelle colonne laterali del midollo.

Questa condizione fu descritta per la prima volta in letteratura nel 1850 quando Francois Aran riportò il caso di una famiglia in cui 11 componenti erano affetti da un sottotipo di SLA, l'**Atrofia Muscolare Progressiva (PMA)**. Amand Duchenne descrisse per primo una decade più tardi un altro sottotipo clinico: **la Paralisi Bulbare Progressiva (PBP)**. Nel 1869, Jean Martin Charcot descrisse invece gli aspetti clinici e patologici della **forma tipica o comune di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)**, e , qualche anno dopo Heinrich Erb per primo descrisse la **Sclerosi Laterale Primaria (PLS)** una condizione patologica ritenuta un altro sottotipo di SLA.

Il termine “**Malattia del Motoneurone**” fu coniato più tardi da Brein nel 1933 per unificare sotto un’unica accezione **la PMA, la PBP, la PLS e la SLA tipica** .

Altro acronimo si diffuse nel 1939 quando si incominciò a parlare di Malattia di Lou Gehrig dal nome di un famoso giocatore americano di baseball affetto da SLA.

Numerose difficoltà si sono negli anni incontrate nel tentativo di formulare una classificazione esaustiva delle SLA, anche solo a livello clinico, perché se da una parte appare relativamente semplice definire le forme “classiche” che costituiscono il “nucleo centrale” di questa malattia, dall’altra esiste una evidente difficoltà nella definizione dei confini nosologici della SLA e quindi nella collocazione delle forme atipiche.

La SLA come abbiamo detto presenta una eterogeneità di espressione fenotipica, che dipendono dalla sede inizialmente coinvolta, dalla distribuzione topografica dei deficit motori, dal prevalente coinvolgimento del I rispetto al II motoneurone e viceversa, dalla durata di malattia, dall’età di esordio, dall’associazione con altre patologie (demenza, Parkinson, neuropatie sensitive, sordità, etc.).

Diverse classificazioni sono state pertanto definite .

A livello topografico si sono distinte inizialmente 3 forme cliniche:

- *SLA tipica o comune*
- *SLA bulbare*
- *Forma pseudo-polineuropatica* (a carico degli AA. II.)

È importante sottolineare che la maggioranza dei malati affetti da SLA tipica sviluppano successivamente segni bulbari e viceversa malati di forma bulbare sviluppano successivamente segni localizzati agli arti .

La ***SLA tipica o comune*** rappresenta il 45-50% dei casi e si manifesta con esordio insidioso e progressivo che colpisce le estremità distali superiori con riduzione di forza associata ad atrofia (mano “a scimmia”) e successivamente una mano simile a quella visibile nella distrofia di Aran Duchenne.

Negli stadi iniziali sono presenti crampi muscolari in tutti i distretti corporei più intensi alle mani; in fase avanzata l’atrofia coinvolge anche gli avambracci e non raramente i muscoli della spalla e degli arti inferiori; talora unilaterale, diventa comunque molto rapidamente bilaterale .

La ***SLA bulbare*** rappresenta il 25% dei casi; in questa forma il coinvolgimento della muscolatura del distretto bulbare porta ad alterazioni della deglutizione e della fonazione (disfagia, perdita di peso, scialorrea, disartria) mentre il coinvolgimento della muscolatura del distretto respiratorio porta ad una progressiva insufficienza respiratoria che rimane uno dei principali segni prognostici di evoluzione della malattia.

Alla progressiva paralisi labio-glosso-faringea, espressione del danno dei nuclei del tronco, si associa anche in più della metà dei casi una sindrome pseudobulbare (riso e pianto spastici) dovuta a lesioni bilaterali delle vie genicolate. Il danno secondario della muscolatura degli arti superiori, inferiori e del tronco è quasi costante .

La ***SLA pseudo-polineuropatica*** rappresenta il 30% dei casi; è caratterizzata da un deficit distale degli arti inferiori che si accompagna molto spesso, paradossalmente, ad un’abolizione dei riflessi achillei.

A livello di popolazione cellulare colpite si sono distinte:

- ***Patologie esclusive o prevalentemente a carico del I motoneurone*** (PLS ed UMN dominant-ALS)

- *Patologie esclusive o prevalentemente a carico del II motoneurone* (PMA, variante pseudopolinevritica e Flail arm or leg Syndrome)
- *Patologie con coinvolgimento sia del I che del II motoneurone* (SLA tipica e forme miste)

A livello molecolare la distinzione è avvenuta tra:

-*Forme geneticamente determinate* dovute all'identificazione di un gene alterato.

-*Forme non geneticamente determinate.*

L'identificazione di geni mutati associati alle malattie del motoneurone ha segnato un importante passo avanti verso la conoscenza dei meccanismi biomolecolari responsabili della degenerazione dei neuroni di moto.

Di particolare importanza è stata la dimostrazione, nel 1993 (ad opera di Rosen DR et al.,) che nel 15-20% dei pazienti affetti da SLA familiare si manifestava una mutazione del gene che codifica per l'enzima antiossidante superossido-dismutasi Cu/Zn dipendente o SOD1 .

In particolare SOD 1 catalizza la reazione di detossificazione dell'anione superossido (O_2^-) che viene convertito in perossido di idrogeno (H_2O_2). Fra tutte le mutazioni quella indagata con maggiore attenzione è la forma legata al cromosoma 21.

Si conoscono 114 mutazioni sul gene SOD 1 che causano la malattia, la maggior parte con ereditarietà di tipo dominante. La mutazione più frequente è D90A, la più studiata è G93A.

Tramite una moderna analisi di linkage sono state identificate nuove mutazioni correlate alla malattia come in alcune forme giovanili dove

è stata individuata la mutazione di un gene l'ALS2 che codifica una proteina: l'alsina (Bruijn et al, 2004).

Queste scoperte hanno dato un forte impulso alla ricerca, soprattutto grazie allo sviluppo di nuovi modelli sperimentali cellulari e animali che hanno permesso di investigare le funzioni tossiche della proteina SOD 1 mutata. Il dato più significativo è per l'appunto la citotossicità della SOD 1 mutata e mediata non da una perdita d'attività dell'enzima, ma dall'acquisizione di proprietà tossiche della proteina mutata.

Questo risultato è stato messo in evidenza soprattutto dai topi transgenici portatori del gene umano mutato della SOD 1 che sviluppano una sindrome neuromuscolare progressiva simile alla SLA, associata alla progressiva perdita dei motoneuroni spinali e bulbari e all'aumentata gliosi reattiva delle regioni colpite dalla malattia (Bendotti, 2004).

Ed infine, a seconda di presenza/assenza di familiarità tra:

- **SLA familiare** (FALS): rappresenta il 10% dei casi totali di SLA e si riscontra quando è possibile individuare nella stessa famiglia altri soggetti affetti.

Tale forma riconosce ad oggi una causa genetica solo nel 15-20% dei pazienti, mentre nei restanti casi si ritiene possano essere coinvolti, oltre a possibili mutazioni genetiche non ancora identificate, particolari fattori ambientali o tossici.

- **SLA sporadica** (SALS): quando non è possibile riconoscere una familiarità. Quest'ultima è la forma più frequente nella quale si esprime la malattia.

Non vi sono differenze cliniche apprezzabili tra SALS e FALS ad eccezione dell'età di esordio: nei casi di SALS intorno ai 60 anni, nei

casi di FALS intorno ai 40 anni. La SLA di tipo sporadico inoltre sembrerebbe colpire maggiormente gli uomini rispetto alle donne, ed in questi l'esordio sembra essere più precoce e la malattia più severa. La World Federation of Neurology Research Group on Neuromuscular Diseases ha preferito raggruppare insieme la SLA sporadica(SALS), la PMA e la PBP come patologie del motoneurone ad eziologia non determinata.

1.2 Eziopatogenesi e fattori di rischio

La o le varie cause della SLA restano oggi ancora sconosciute, ma sono state proposte nel corso degli anni diverse e suggestive ipotesi.

La teoria dell'eccitotossicità riconosce un ruolo patogenetico nell'acido glutammico, neurotrasmettitore eccitatorio del sistema nervoso centrale, che quando è presente in concentrazioni superiori alla norma è in grado di indurre degenerazione neuronale: il glutammato provocherebbe alterazioni a livello della membrana con eccessivo ingresso di calcio e stimolerebbe meccanismi intracellulari a cascata con produzione di radicali liberi. Tale processo favorirebbe la morte del motoneurone (Rothstein *et al.*, 1995).

La teoria dell'accumulo dei neurofilamenti si basa sull'osservazione di un loro accumulo nel corpo e nell'assone prossimale dei motoneuroni in pazienti con SLA (Hirano *et al.*, 1984). Inoltre sono state riconosciute mutazioni nel gene codificante per la subunità pesante dei neurofilamenti in alcuni pazienti con questa malattia (Al-Chalabi *et al.*, 1999). L'aberrante espressione di queste proteine provocherebbe la degenerazione interferendo con il regolare flusso assonale (Collard *et al.*, 1995).

Altre possibili ipotesi patogenetiche sono incentrate sulla **disregolazione del calcio intracellulare**: un'alterata omeostasi di questo ione potrebbe condurre infatti alla morte neuronale.

Al contrario la resistenza di particolari motoneuroni (ad esempio degli oculomotori, che sono tipicamente risparmiati nella SLA) potrebbe essere legata alla presenza di proteine leganti il calcio intracellulare (Vanselow *et al.*, 2000).

Circa il 10% dei pazienti con SLA ha una familiarità positiva e di solito l'ereditarietà è di tipo autosomico dominante, più raramente

recessivo. Il 15-20% di queste forme autosomiche dominanti presenta, come sopra accennato, una mutazione nel gene SOD1 sul cromosoma 21, codificante per l'enzima Cu/Zn superossido dismutasi (Rosen *et al.*, 1993). Questa mutazione provocherebbe un'alterazione della sua attività con produzione di radicali liberi e di substrati anomali (come il radicale perossinitrito, che porterebbe all'aberrante nitratura dei residui tirosinici proteici) (Beckman *et al.*, 1993). Finora non è stata dimostrata alcuna associazione certa tra fattori di rischio e SLA.

Recenti studi molecolari avvalorano comunque l'ipotesi di malattia multifattoriale (Majoer-Krakauer *et al.*, 2003; Andersen *et al.*, 2003), focalizzando l'importanza dei fattori genetici in associazione con fattori ambientali (traumi, attività fisica, agenti chimici, shock elettrici, metalli pesanti, agenti infettivi ...) nell'attivazione del processo patologico.

La SLA, sembrerebbe quindi, essere in qualche modo connessa con l'attività sportiva: recenti studi cercano di dimostrare infatti la possibile associazione tra la pratica agonistica del calcio e la SLA (Chiò *et al.*, 2005) ma a tutt'oggi non vi sono ancora dati statisticamente significativi a supporto di tale ipotesi.

In tal senso sono state proposte 4 possibili spiegazioni dello sviluppo della malattia nei calciatori professionisti: il grado di sforzo fisico, i traumi, l'esposizione a farmaci dopanti e l'esposizione ad alti livelli di erbicidi tossici o di fertilizzanti impiegati nella manutenzione dei campi di calcio.

Ma al momento neanche queste supposte associazioni sono state provate (Al-Chalabi *et al.*, 2005).

1.3 Dati epidemiologici

La SLA è una malattia ubiquitaria nel mondo, con aree di elevata incidenza in alcune regioni del Pacifico Occidentale (isola di Guam) ed in Giappone.

La prevalenza della SLA a livello mondiale è di circa 4-6 casi su 100.000 persone/anno.

L'incidenza è di circa 2 casi su 100.000 persone/anno.

In alcuni studi è stata calcolata un'incidenza di 1,7-2,3 casi per 100.000 persone/anno (Beghi *et al.*, 2006).

In Italia, l'incidenza della SLA, in linea con la media mondiale, risulta compresa tra 0,6 e 1,9 casi per 100.000 abitanti .

Essa è estremamente rara sotto i 30 anni di età e molto più diffusa invece tra i 50 e i 60 anni con un chiaro aumento di incidenza nella settima decade di vita.

Una delle caratteristiche epidemiologiche della SLA è rappresentata dal possibile recente aumento della sua incidenza, come sembrano indicare diversi studi al riguardo. Questo potrebbe essere correlato al miglioramento delle tecniche diagnostiche, specialmente nelle donne e negli anziani che al giorno d'oggi ricorrono all'attenzione medica molto più spesso rispetto ad un tempo (Beghi *et al.*,2006) e, secondo alcuni, anche ad un allungamento generale della speranza di vita.

1.4 Clinica e suddivisione in sottotipi clinici

La clinica della SLA è caratterizzata da una inesorabile progressione, la cui rapidità è riconducibile alla maggiore o minore distribuzione delle lesioni neurodegenerative. Queste possono colpire settorialmente sia il primo che il secondo neurone di moto della via cortico-spinale e/o cortico-bulbare. Di norma sono assenti disturbi a carico delle vie sensitive, fatta debita eccezione per quei pazienti con comorbidità neurologiche.

Il coinvolgimento del motoneurone corticale si obietta in primis durante la valutazione neurologica con il riscontro di una ridotta destrezza nei movimenti, una caratteristica spasticità ed una iperreflessia profonda oltre alla presenza di segni tipici quali il Babinski e l'Hoffmann positivi .

Il coinvolgimento del motoneurone inferiore si manifesta invece con una ipotrofia, se non addirittura, atrofia muscolare, ipotonia o flaccidità, oltre a fascicolazioni, iporeflessia profonda e/o paresi/plegia.

La malattia in caso di coinvolgimento bulbare (presente all'esordio in oltre il 28% di tutte le SLA, Beghi et al., 2007) può colpire anche la componente motrice somatica dei nuclei dei nervi cranici: in tal caso i rami più deficitari riscontrati sono stati l'ipoglosso, l'accessorio, il vago ed il glossofaringeo, mentre percentualmente meno colpito sembrerebbe il nervo faciale. Dato caratteristico è inoltre rappresentato dal risparmio dei nuclei dei nervi oculomotori.

Il coinvolgimento nel distretto bulbare si manifesta con turbe nell'eloquio (disartria), nella deglutizione (disfagia, scialorrea), nella fonazione (disfonia, voce nasale) e nella masticazione.

Il paziente nelle forme da deficit di II° presenta ipotrofia, paresi e fascicolazioni linguali, velo palatino ipomobile, iporeattività del riflesso faringeo, ipotrofia ed astenia dei muscoli sternocleidomastoideo e trapezio.

Il deficit di I° in questo distretto può evidenziare labilità emotiva e crisi di riso e pianto spastico (sindrome pseudobulbare) oltre alla positività del riflesso masseterino all'esame neurologico.

Inoltre molto comune in queste forme è la comparsa di una progressiva dispnea che può diventare vera e propria insufficienza per il rapido coinvolgimento della muscolatura respiratoria: fatto che, in poco tempo, condanna questi pazienti a morte prematura.

Inoltre esistono anche forme con associate alterazioni del ritmo sonno-veglia e disturbi cognitivi del lobo frontale, sino alla demenza fronto-temporale. Addirittura alterazioni neuropsicologiche sono riportate in percentuali variabili fino al 47% dei casi (Ringholz *et al.*, 2005); mentre quadri di vera e propria demenza sono descritti in associazione fino al 5% dei pazienti con SLA (Vercelletto *et al.*, 1999).

L'esordio dei sintomi in età avanzata (oltre la settima decade), come anche un breve intervallo tra esordio sintomatico e diagnosi oltre ad una rapida diffusione bulbare dei sintomi sono considerati fattori prognostici negativi; mentre il prevalente coinvolgimento del I° motoneurone all'obiettività neurologica è stato considerato un fattore prognostico positivo (Zoccolella *et al.*, 2007).

I principali sottotipi clinici, ad oggi individuati, della malattia dei motoneuroni sono rappresentati da:

1. **SLA TIPICA:** è la forma di più usuale riscontro ed è caratterizzata dalla presenza, in uno o più distretti, di segni di

coinvolgimento dei motoneuroni sia corticale che spinale-bulbare. La sintomatologia è in genere rapidamente progressiva.

2. **SCLEROSI LATERALE PRIMARIA (PLS):** questa forma è caratterizzata dal coinvolgimento del solo motoneurone corticale, anche se, nella storia di malattia, può successivamente manifestarsi anche un coinvolgimento del secondo motoneurone. In questa ipotesi, fra l'altro abbastanza frequente, si assiste ad un viraggio verso una UMN dominant-ALS od addirittura verso una forma di SLA tipica (**Figura 2**). Quindi per una maggiore certezza diagnostica di SLP sarebbe necessario attendere almeno 3 anni dall'inizio dei sintomi per verificare il coinvolgimento esclusivo del primo neurone di moto (Pringle *et al.*, 1992). Caratteristica di questa forma è l'evoluzione del quadro clinico molto più lentamente rispetto ad una forma di SLA tipica.
3. **ATROFIA MUSCOLARE PROGRESSIVA (PMA):** è la forma che colpisce il secondo motoneurone, senza segni clinici e neurofisiologici di coinvolgimento del primo. In questi pazienti la progressione dei sintomi avviene più lentamente rispetto alla forma tipica, seppure anche per questa forma è sempre possibile il viraggio verso una SLA tipica per il successivo coinvolgimento anche parziale del motoneurone superiore (**Figura 2**).
4. **PARALISI BULBARE PROGRESSIVA (PBP):** rappresentano circa il 10% di tutte le SLA. In questa forma i sintomi coinvolgono tipicamente e sin dall'esordio di malattia la regione bulbare potendo colpire in misura variabile sia il primo che il secondo motoneurone indifferentemente.

Pur se facilmente inquadrabile all'esame obiettivo proprio per il settoriale coinvolgimento della muscolatura bulbare, resta neurofisiologicamente la forma di più difficile valutazione.

Ha una progressione quasi sempre più rapida rispetto alla SLA tipica e pertanto ha una prognosi decisamente più infausta. Anche qui, durante la storia di malattia vi può essere una successiva evoluzione verso una forma tipica di SLA (**Fig. 2**).

5. **“FLAIL ARM or LEG” SYNDROME:** è caratterizzata dal coinvolgimento predominante, ma non esclusivo, della muscolatura prossimale degli arti superiori o degli arti inferiori in modo simmetrico e selettivo, con caratteristica debolezza ed atrofia (ad esempio per la forma FLAIL ARM, più diffusa, risultano coinvolti i muscoli del cingolo scapolare). In queste forme, sia per segni clinici all'esame obiettivo che per conferma dalle indagini neurofisiologiche, risulta coinvolto prevalentemente, se non quasi esclusivamente, il secondo motoneurone. Da notare che la regione bulbare ed, a seconda della specifica forma FLAIL ARM or LEG, gli arti risultati asintomatici sono generalmente risparmiati. Anche in questa forma è possibile un viraggio per il coinvolgimento successivo della muscolatura degli altri distretti. In alcuni di questi pazienti può coesistere tra l'altro una spondilosi degenerativa cervicale, che può complicare non poco il quadro prolungando anche l'intervallo esordio sintomatico-diagnosi (in tali pazienti l'assenza di sintomi sul versante sensitivo, dopo un opportuno periodo di osservazione, dovrebbe orientare verso un più plausibile quadro di malattia dei motoneuroni). La prognosi di questa sindrome sembrerebbe comunque migliore rispetto alla classica forma tipica (Couratier *et al.*, 2000).

6. **UMN DOMINANT-ALS** : è un sottotipo introdotto negli ultimi anni proprio dall'osservazione di un considerevole numero di pazienti con PLS che successivamente al loro inquadramento hanno sviluppato anche segni o sintomi, comunque inferiori, di coinvolgimento del secondo motoneurone e sono stati per l'appunto definiti come "Upper Motor Neuron dominant-ALS, riservando l'inquadramento nel sottotipo di PLS "pura" solo a quei casi con assenza sia clinica che strumentale di qualsiasi segno di coinvolgimento del secondo motoneurone.

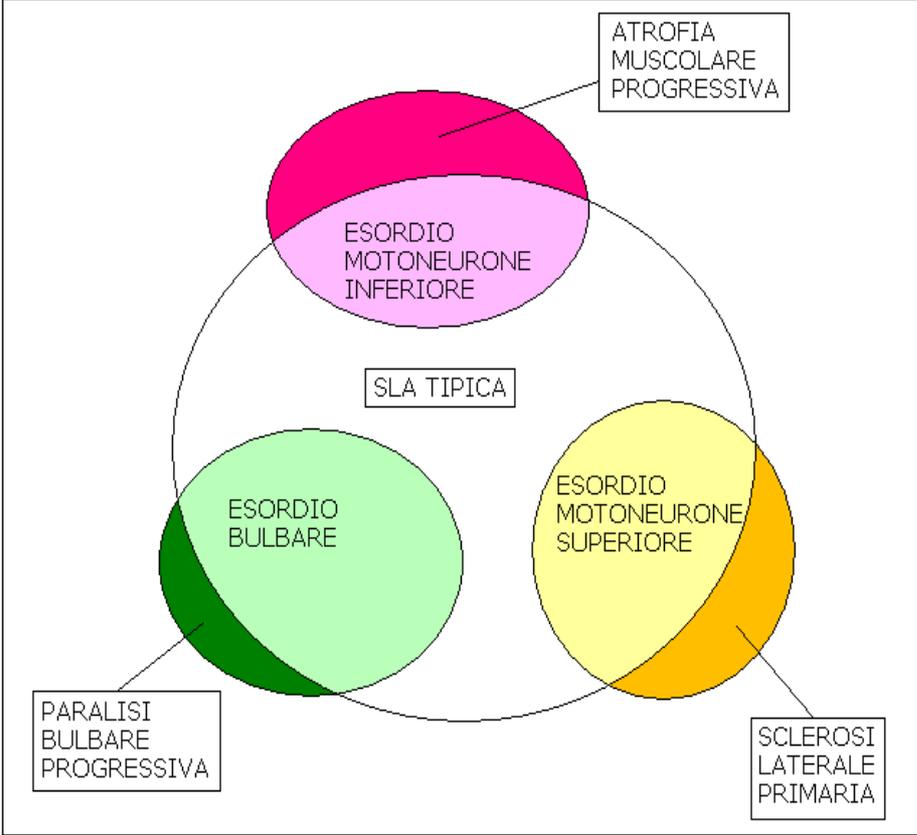


Fig. 2. Principali sottotipi clinici di SLA: le altre forme non rappresentate risultano intermedie a queste per sede di esordio, segni o sintomi.

1.5 Diagnosi e criteri diagnostici

Non esistono test specifici per la SLA e la diagnosi resta essenzialmente clinica, neurofisiologica e neuropatologica. Ovviamente il riconoscimento della malattia dovrebbe avvenire il più precocemente possibile ma questo può risultare difficile in quanto la maggior parte dei pazienti all'esordio presenta solo sintomi focali limitati ad una o due regioni. Il 10% dei pazienti con SLA inoltre riceve una diagnosi iniziale errata (Traynor *et al.*, 2000).

La diagnosi di SLA richiede secondo i criteri diagnostici internazionali di El Escorial del 1994, revisionati nel 1998:

- segni di coinvolgimento del primo motoneurone (**solo su criteri clinici**);
- segni di coinvolgimento del secondo motoneurone (**basati sia su criteri clinici che elettromiografici inclusi segni all'EMG in muscoli clinicamente non affetti**);
- quadro clinico progressivo;
- assenza di alterazioni oggettive della sensibilità;
- assenza di turbe degli sfinteri o autonome.

La diagnosi è solo ulteriormente supportata da:

- presenza di fascicolazioni in uno o più distretti;
- elettromiografia con caratteri di sofferenza neurogena;
- **potenziali evocati motori (PEM) a verifica di un possibile coinvolgimento del primo motoneurone**;
- normale velocità di conduzione nervosa sia sensitiva che motoria ad esclusione di altre patologie.

Devono inoltre essere assenti evidenze elettromiografiche o di neuroimaging che potrebbero supportare un'altra patologia.

I pazienti con sospetta malattia del motoneurone vanno quindi sottoposti ad una serie di accertamenti, quali:

1. **EMG e studio delle velocità di conduzione nervosa**: sono utili per escludere neuropatie (in cui la velocità di conduzione è ridotta) e in particolare la neuropatia motoria multifocale (caratterizzata dal riscontro di blocchi di conduzione all'ENG);
2. **risonanza magnetica nucleare (RMN) cerebrale e spinale**: per valutare l'encefalo (la corteccia potrebbe apparire atrofica a livello delle aree motoria e premotoria) e per escludere altre patologie o compressioni sul midollo spinale;
3. **potenziali evocati motori (PEM)**: per valutare la conduzione dello stimolo motorio a livello centrale;
4. **esami radiografici**: per escludere la possibilità di tumori che potrebbero essere responsabili di una forma paraneoplastica;
5. **biopsia muscolare**: per valutare il quadro patologico a livello delle fibre muscolari;
6. **analisi del liquor**: è generalmente normale nei pazienti con malattie del motoneurone ma può essere utile per la diagnosi differenziale. Si valutano cellularità, glucosio, lattato, proteine totali, eventuali bande oligoclonali di IgG, anticorpi contro i gangliosidi ed eventuali anticorpi virali o anti-Borrelia.

L'iter diagnostico comprende anche gli esami ematochimici. In tutti i casi sono raccomandati: emocromo con formula, PCR, AST, ALT, LDH, CPK, creatinina, elettroliti, glucosio. Il CPK in particolare è un marker di sofferenza muscolare. Per la diagnosi differenziale si aggiungono:

- **vitamina B12 e folati**: per escludere una degenerazione subacuta combinata;

- PTH: per escludere un iperparatiroidismo;
- fT3, fT4, TSH: per escludere un ipertiroidismo;
- anticorpi anti-ganglioside GM1: sono tipici della neuropatia motoria multifocale ma talvolta sono presenti anche nella sindrome di Guillain-Barré;
- anticorpi anti-glicoproteina associata alla mielina (anti-MAG): in genere si riscontrano nelle neuropatie sensitivo-motorie demielinizzanti;
- anticorpi anti-recettore dell'acetilcolina o anti-Musk: per escludere la miastenia gravis;
- markers neoplastici: per escludere una neuronopatia paraneoplastica;
- elettroforesi delle proteine sieriche: per evidenziare un'eventuale gammapatia monoclonale.

Inoltre nell'anamnesi patologica remota del paziente andrebbe sempre cercata un'eventuale poliomielite pregressa in quanto potrebbe essere responsabile della sindrome post-poliomielitica (compresa anch'essa nelle possibili patologie che mimano la SLA e che quindi devono entrare in diagnosi differenziale con essa).

I criteri diagnostici internazionali di El Escorial, revisionati nel 1998 (Brooks *et al.*, 2000) cui si fa riferimento, permettono una classificazione delle malattie del motoneurone in base al livello di **“certezza diagnostica”** e si basano sulla presenza di segni di perdita di primo e/o secondo motoneurone in quattro regioni: tronco cerebrale, tratto cervicale, tratto toracico e tratto lombosacrale del midollo spinale.

I criteri di El Escorial-rivisti, sviluppati dalla World Federation of Neurology, sono elencati nella **tabella A** e, pur nella loro complessità,

rappresentano lo strumento più utilizzato per l'inquadramento diagnostico del paziente.

Tabella A. Criteri di El Escorial-rivisti (Brooks *et al.*, 2000).

<i>SLA clinicamente definita</i>	Segni clinici di I e di II motoneurone in tre regioni distinte
<i>SLA clinicamente probabile</i>	Segni clinici di I e di II motoneurone in due regioni distinte + alcuni segni di I motoneurone rostrali a quelli di II
<i>SLA clinicamente probabile con conferma di laboratorio</i>	Segni clinici di I e di II motoneurone in una regione o segni di I motoneurone in una singola regione e segni di II motoneurone definiti da criteri elettromiografici in almeno due regioni con applicazione di protocolli neuroradiologici e laboratoristici per escludere altre cause
<i>SLA clinicamente possibile</i>	Segni clinici di I e di II motoneurone in una regione o segni di I motoneurone in almeno due regioni o segni di II motoneurone rostrali a quelli di I
<i>SLA familiare clinicamente definita-confermata</i>	Positività al test genetico anche in assenza di criteri clinici sufficienti
<i>SLA clinicamente sospetta</i>	Solo segni di II motoneurone

Benché la Sclerosi Laterale Amiotrofica costituisca nell'ambito delle malattie degenerative del sistema nervoso un'entità clinica ben nota al neurologo, la diagnosi di questa malattia resta ancora una "diagnosi di esclusione" perché non vi sono segni clinici patognomonic né test diagnostici specifici.

La diagnosi di SLA ribadiamo, richiede l'assenza di disturbi oggettivi della sensibilità, assenza di disturbi sfinterici e positività degli esami di neurofisiologia clinica, soprattutto dell' EMG .

Bisogna comunque ricordare che solamente la presenza concomitante di disfunzione a carico del I e del II motoneurone permette di diagnosticare la malattia con basso tasso di errore.

Non esistono delle efficaci strategie terapeutiche, l'unica eccezione, sulla base dell'ipotesi eccitotossica, è al momento rappresentata dal Riluzolo, inibitore della liberazione pre-sinaptica del glutammato (Gurney ME et al, 1996), ma trials clinici con l'uso di questo farmaco sono stati piuttosto deludenti mostrando solo un modesto aumento della sopravvivenza di circa 3 mesi ed una scarsa efficacia nel combattere la progressione della malattia.

2. TECNICHE DI INDAGINE NEUROFISIOLOGICHE

2.1 Lo studio del secondo motoneurone:

l' Elettromiografia

E' ormai dimostrato da studi in letteratura che responsabile principale dell'ipostenia nonché della maggiore o minore rapidità nel decorso della malattia sia in generale la perdita dei motoneuroni inferiori, mentre la degenerazione del primo motoneurone determinerebbe sostanzialmente un rallentamento della velocità del movimento e della sua destrezza in assenza di un'importante correlazione con la progressione di malattia.

Il secondo motoneurone che, insieme al suo assone ed alle fibrocellule muscolari di sua pertinenza forma l'Unità Motoria (UM), è pertanto particolarmente responsabile del mantenimento di forza e trofismo muscolare .

Per lo studio del secondo motoneurone l'Elettromiografia rimane la metodica neurofisiologica più utilizzata e risulta, a ragione, contemplata tra i criteri diagnostici El Escorial permettendo di accertare il danno a carico del secondo neurone di moto con alta sensibilità: si avvale infatti di un maggior numero di metodiche di indagine di semplice esecuzione e stabilita efficacia quali l'EMG ad ago (inclusa l'analisi dei PUMs), l'EMG di singola fibra (SFEMG), la Macro-EMG, la Motor Unit Number Estimation (MUNE) e, non ultima, l'Elettroencefalografia motoria e sensitiva (VCM, VCS, Risposte Riflesse e Stimolazione Ripetitiva).

Oltre a contribuire in maniera significativa alla diagnosi, l'EMG permette di quantificare l'evoluzione clinica e può essere molto utile sia nel follow-up di questi pazienti, così come marker in trials clinici

per fornire indicazioni fisiopatologiche sull'azione dei farmaci in sperimentazione.

Come è noto nel corso della malattia l'UM viene progressivamente “*rimaneggiata*”: il processo patologico caratteristico della SLA è determinato infatti da sequenze di denervazione e reinnervazione che in una prima fase, fino ad una perdita di circa il 50% dei motoneuroni, non comportano alterazioni funzionali clinicamente apprezzabili.

Il relativo compenso funzionale è consentito dal processo di “collateral sprouting” che attraverso l'emissione di germogli sinaptici reinnerva fibre muscolari già denervate producendo appunto un rimaneggiamento dell'UM con ampliamento del suo “territorio”, aumento della densità di fibre e tendenza alla desincronizzazione della trasmissione neuromuscolare.

Segue una successiva fase di scompenso in cui le residue UM non sono più in grado di soddisfare le richieste di contrazione muscolare e l'ipostenia diviene clinicamente evidente.

Tale processo che ha il suo correlato patologico nel “fiber grouping”, può essere monitorato neurofisiologicamente attraverso le diverse metodiche elettromiografiche per lo studio dell'Unità Motoria di maggiore o minore uso nei diversi laboratori.

L' EMG ad ago è tra le varie metodiche elettromiografiche sicuramente quella più in uso per la diagnosi di SLA: il quadro EMGrafico si caratterizza per la coesistenza di segni d'attività sia di denervazione che di cronica reinnervazione .

I primi compaiono sia a muscolo a riposo con presenza di attività spontanea patognomonica di denervazione quali potenziali di fibrillazione e potenziali di onde lente positive

(cui possono associarsi o meno anche fascicolazioni muscolari), sia a sforzo massimo mediante *valutazione quantitativa* del pattern di

reclutamento, comunque neurogeno, ma variabile da “assente”, quando vi è anche conseguente compromissione muscolare, “a PUM prevalenti”, a “molto povero”, a “povero” od in alcuni casi anche a solo “incompleta transizione od interferenza” (secondo il grado di maggiore o minore denervazione in atto).

I segni di cronica reinnervazione invece si possono valutare soprattutto durante modica contrazione volontaria che consente di analizzare mediante *valutazione qualitativa* le modificazioni morfologiche dei diversi Potenziali d’Unità Motoria (aumento di durata, ampiezza e polifasia) la cd. “**Analisi dei PUMs**”, ma anche con riscontro allo sforzo massimo dove possono comparire segni di marcata “instabilità” del pattern di reclutamento delle UM, comunque variabili lungo il decorso della malattia .

E’ doveroso però precisare che l’efficienza della reinnervazione nella SLA si è dimostrata in genere minore rispetto ad altre patologie su base neurogena proprio perché l’anomalia metabolica generalizzata interessa le cellule delle corna anteriori. Per tale motivo la presenza di potenziali di fibrillazione all’ EMG in muscoli clinicamente normali diviene una caratteristica fondamentale nella diagnosi di SLA in quanto indica denervazione acuta senza reinnervazione. (Brooks et al., 1994, 2000).

Così ad esempio la presenza all’EMG di una denervazione parziale cronica in muscoli degli arti superiore ed inferiore anche in assenza di segni o sintomi di debolezza sono estremamente utili quando sono più evidenti sintomi bulbari o comunque di coinvolgimento del primo motoneurone.

Come pure il riscontro di un quadro di denervazione in muscoli del tratto bulbare, per es. al muscolo genioglosso, anche quando non vi sia

un deficit clinico, indica chiaramente che la malattia è rostrale al tratto cervicale (Finsterer et al., 1997, 1998).

Li et al. (1986) a tal proposito hanno dimostrato a controprova che le fascicolazioni della lingua sono ad esempio un indicatore clinico di SLA tanto accurato da far registrare una sensibilità del 98% ed una specificità dell'84% .

Si comprende pertanto come queste caratteristiche EMGrafiche estendano i risultati dell'esame clinico e siano fondamentali per una diagnosi precoce.

L'EMG di singola fibra (SFEMG) grazie all'impiego di agoelettrodi dalla superficie di registrazione molto limitata consente di raccogliere informazioni riguardanti singole fibre muscolari appartenenti alla stessa Unità Motoria.

La valutazione si basa essenzialmente su due parametri: il "**Jitter**" ossia una misura dell' "instabilità" della trasmissione neuromuscolare, aumentato nella SLA, e la "**Densità di Fibre**", pure generalmente aumentata per effetto della reinnervazione collaterale.

Le dimensioni invece delle singole Unità Motorie possono essere valutate con l'impiego di un elettrodo per **Macro-EMG** (Stalberg, 1983). Con tale tecnica si utilizzano infatti agoelettrodi ad ampia superficie di registrazione che permettono di ottenere potenziali che ben correlano con le dimensioni dell'Unità Motoria ed il numero di fibre muscolari che la compongono.

Nei pazienti con SLA l'area o l'ampiezza del macro-PUM, se confrontata con valori normali, risulta aumentata anche fino a 3-4 volte (Stalberg, 1983): l'ingrandimento del PUM e l'aumento della densità di fibre sono il risultato della germogliatura assonale che deriva da quei motoneuroni superstiti che sono ancora in grado di

reinnervare fibre muscolari denervate ossia rimaste “orfane” del proprio assone.

Solo nelle fasi terminali della malattia l'ampiezza del macro-PUM diviene più piccola, così che l'aumento di ampiezza può risultare solo di poco maggiore al normale (Stalberg, 1983) .

Può accadere però anche di registrare un macro-PUM con un'ampiezza o ad una densità di fibre minore del normale, e ciò nei pazienti con SLA può essere patognomonico di una fase in cui la capacità di reinnervazione assonale si è esaurita.

Da quanto esposto è più facile comprendere come nella storia naturale della SLA il processo patologico coinvolga in gradi e tempi differenti i diversi motoneuroni nel pool di cellule del corno anteriore e, questo, risulta di fondamentale importanza oltre che nella comprensione fisiopatologica dei meccanismi sottostanti anche per una corretta interpretazione dei dati registrati all'EMG.

Il **Motor Unit Number Estimation** (MUNE) rappresenta invece una stima del numero di Unità Motorie che compongono un muscolo.

Può essere calcolata dividendo l'ampiezza o l'area del CMAP, ottenuto per stimolazione sovramassimale del nervo motorio, per l'ampiezza o area media dei singoli potenziali di Unità Motoria ottenuti con l'impiego di un elettrodo per macro-EMG.

Vari metodi sono stati messi a punto per valutare il numero delle UM che innervano un muscolo.

Sin dalla descrizione della prima tecnica cd. incrementale da parte di McComas negli anni '70, altri metodi sono stati proposti al fine di misurare con la maggiore precisione un numero di PUM significativi dell'intero pool. Cinque metodi secondo la review di Shefner del 2001 sono in uso: la tecnica incrementale, la stimolazione da punti multipli,

il metodo dell' onda F, quella denominata spike-triggered averaging ed il metodo statistico.

Tutti i metodi si basano sullo stesso principio e tra questi nessuno in particolare si è dimostrato finora superiore rispetto agli altri.

Nelle SLA comunque, grazie al MUNE, indipendentemente dal metodo utilizzato, si è registrato, nel primo anno di malattia dopo diagnosi, un iniziale assai rapido declino nel numero di UM, addirittura fino al 70%, seguita nel tempo solo da una più piccola ma inesorabile continua riduzione del numero di UM in base anche alla naturale progressione di malattia.

Questa rapida precipitazione iniziale nel numero delle UM si contrappone però alla lineare diminuzione di forza muscolare lamentata dai pazienti o testata clinicamente (Andres et al, 1988). L' apparente contraddizione può trovare piena giustificazione nel fatto che all'importante e rapida perdita di UM nelle prime fasi di malattia si contrappone un aumento della forza che le UM superstiti riescono a generare grazie all'allargamento del loro territorio avvenuto nel frattempo per il meccanismo di "collateral sprouting" generatosi a compensazione della perdita di UM.

Nelle fasi successive di malattia, con analisi sempre mediante MUNE, si è assistito invece ad una progressione lineare e costante nella perdita delle UM di pari passo con la clinica riscontrata (dato concorde con una sempre minore reinnervazione compensatoria da parte delle UM superstiti nella SLA). (McComas et al, 1971, 1993)

L'**Elettroencefalografia** (ENG) si compone degli studi di conduzione motoria (VCM) e sensitiva (VCS) ed è utilizzata spesso nei pazienti con SLA o per escludere altre patologie del SNP come ad esempio la neuropatia motoria multifocale caratterizzata da blocchi di conduzione, o, per confermare la funzionalità del contingente di fibre

sensitive, solitamente risparmiate nella SLA, ed avvalorare ulteriormente un sospetto clinico ed elettromiografico per tale patologia.

La velocità di conduzione motoria è solitamente normale nelle SLA: infatti anche nelle fasi terminali della malattia si presenta solo un modesto rallentamento della VCM proporzionato alla degenerazione assonale (de Carvalho and Swash, 2000).

Questo rallentamento si presume rifletta la preferenziale degenerazione o la maggiore compromissione dei più grandi e più veloci prolungamenti assonali che originano delle cellule delle corna anteriori.

Altra ipotesi che comporterebbe un rallentamento nella VCM potrebbe derivare dalla rigenerazione dei nuovi germogli assonali, che comunque, essendo sottilmente mielinizzati, risulterebbero meno veloci nella trasmissione degli impulsi.

I parametri più indicativi in Elettroencefalografia sono pertanto l'ampiezza e l'area del Potenziale d'Azione Muscolare Composto (CMAP), parametri che progressivamente tendono a ridursi proporzionalmente alla perdita di motoneuroni funzionanti.

Tuttavia nelle prime fasi di compenso essi possono non modificarsi proprio grazie al fenomeno di "collateral sprouting" che come abbiamo visto prevede un'ampliamento dell'Unità Motoria: questo è uno dei motivi che rende il CMAP poco sensibile ai fini del monitoraggio clinico, specie nelle fasi iniziali di malattia quando è più difficile la ricerca di segni sub-clinici.

2.2 Lo studio del primo motoneurone: La Stimolazione Magnetica Transcranica ed i Potenziali Evocati Motori

a) Basi Tecniche

L'induzione elettromagnetica, che produce una corrente in un oggetto conduttore attraverso un campo magnetico, fu descritta per la prima volta da Michael Faraday nel 1831 al Royal Institute of Great Britain. Questi avvolse due bobine su un anello e trovò che ogni volta che il coil (un anello di filo di rame), era connesso o disconnesso a una batteria da un lato, una corrente elettrica gli passava attraverso dall'altro lato: l'anello di rame svolgeva in questo modo il ruolo di canale collegando le due bobine attraverso il campo magnetico.

Da questa lontana osservazione trae origine il principio di mutua induzione secondo il quale il circuito elettrico primario determina, attraverso la produzione di un campo magnetico, una corrente indotta in un circuito secondario adiacente.

Pertanto una corrente elettrica può generare un campo magnetico ed allo stesso tempo una variazione del campo magnetico può generare una corrente indotta.

Applicando queste semplici osservazioni al campo neurofisiologico, si può intuire che una repentina variazione di un campo magnetico applicato ad una zona del corpo umano origina in esso una vera e propria corrente indotta e quindi provoca una stimolazione: questa osservazione è alla base dello sviluppo della moderna Stimolazione Magnetica .

Il flusso magnetico si misura in weber (Wb) mentre l'induzione, che esprime la distribuzione delle linee di forza nello spazio, si esprime in Tesla che corrisponde a weber/metro².

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) utilizza più specificamente campi magnetici a rapida variazione per attivare la corteccia cerebrale con una risoluzione temporale inferiore al secondo ed una risoluzione spaziale inferiore al centimetro.

Se la corrente è di ampiezza e durata sufficiente è quindi possibile stimolare i tessuti neuromuscolari nello stesso modo della più convenzionale stimolazione elettrica, superando così anche il maggior limite della stimolazione elettrica rappresentato dall'impossibilità di incrementare l'intensità della stimolazione senza provocare dolore nel paziente.

2.2 Lo studio del primo motoneurone: La Stimolazione Magnetica Transcranica ed i Potenziali Evocati Motori

b) Cenni Storici

La prima dimostrazione dell'eccitabilità della corteccia motoria risale al 1870 grazie agli studi di Fritz ed Hitzig che scoprirono come nel cane, previa craniotomia, la stimolazione elettrica di parti diverse della corteccia cerebrale provoca la contrazione dei muscoli dell'emisoma controlaterale. Nel 1875 Ferrier estese queste osservazioni alla scimmia, ottenendo movimenti degli arti controlaterali attraverso la stimolazione elettrica dei giri precentrale e postcentrale e movimenti degli occhi stimolando la corteccia parietale posteriore.

Nel 1917 Leyton e Sherrington scoprirono che nei primati gli effetti motori a latenza più breve si ottengono con la stimolazione del giro precentrale (area 4 di Brodmann o corteccia motoria primaria o M1).

Nel 1950 con Penfield e Rausmussen si stimolò direttamente la corteccia motoria nell'uomo ricostruendo la mappa dell'homunculus motorio e scoprendo la localizzazione e la funzione delle aree premotorie.

Da allora i neurofisiologi tentarono di dare impulso ad una nuova metodica che, sfruttando l'eccitabilità corticale, valutasse in modo non invasivo la funzionalità della via corticospinale.

Dalla metà degli anni sessanta le scoperte si sono via via susseguite: nel 1965 Bickford e Flemming sperimentalmente attuarono in maniera non invasiva la *stimolazione corticale mediante stimolo magnetico* dei nervi facciali.

Quasi negli stessi anni, e precisamente verso la fine degli anni settanta furono Merton e Morton che misero a punto una diversa tecnica di

stimolazione corticale utilizzando questa volta uno *stimolatore elettrico* e non magnetico (Stimolazione Elettrica Transcranica o TES) per eccitare le aree motorie cerebrali nell'uomo attraverso lo scalpo intatto; erogarono infatti impulsi di breve durata (50-100 msec) ad elevata intensità o voltaggio (fino a 2000 V) riuscendo ad ottenere una risposta muscolare relativamente sincrona allo shock elettrico. Ma il limite principale della Stimolazione Elettrica Corticale era rappresentato dall'eccessiva dolorosità per via della dispersione tangenziale dei campi elettrici e la conseguente eccitazione di algorecettori delle strutture craniche extracefaliche.

Infine nel 1982 Polson e colleghi produssero una versione di stimolatore magnetico capace di stimolare a livello periferico e registrare il potenziale evocato muscolare.

Ma solo nel 1985 con Barker ed il gruppo dell'Università di Sheffield si arriva alla messa a punto di uno stimolatore magnetico con caratteristiche molto simili a quelli moderni: diveniva così possibile stimolare sia i nervi che la corteccia motoria cerebrale a scalpo integro grazie ad una metodica che, a differenza di quella che si avvaleva del doloroso stimolo elettrico, riduceva finalmente in modo quasi totale il disagio del paziente . Ciò è possibile perché i campi magnetici attraversano inattenuati le strutture craniche extracefaliche, oltretutto senza eccitare i recettori per il dolore.

Per la sua ottima tollerabilità e per l'assenza sostanziale di significativi effetti avversi, la Stimolazione Magnetica ha avuto una rapida diffusione nei laboratori clinici, soppiantando la Stimolazione Elettrica, che viene impiegata ormai solo in alcune condizioni particolari.

Va però ricordato che le 2 tecniche non sono alternative, in quanto esplicano la loro azione depolarizzante su diversi elementi neuronali

corticali: lo stimolo magnetico depolarizza prevalentemente interneuroni corticali e solo indirettamente, per via transinaptica, i motoneuroni cortico-spinali; lo stimolo elettrico al contrario depolarizza direttamente i motoneuroni cortico-spinali.

2.2 Lo studio del primo motoneurone: La Stimolazione Magnetica Transcranica ed i Potenziali Evocati Motori

c) Metodologia

Per la valutazione delle vie motorie corticospinali nell'uomo possono essere utilizzate due diverse modalità di stimolazione della corteccia motoria entrambe non invasive: elettrica (sensibilmente più dolorosa) e magnetica.

Attualmente la più frequentemente utilizzata in campo clinico è la stimolazione magnetica in quanto, ad un minor disagio per il paziente, associa una maggiore efficacia nell'elicitare le strutture corticali motorie, soprattutto quelle più profonde che presentano maggiori difficoltà nell'essere eccitate .

Un problema ricorrente in letteratura infatti anche con la Stimolazione Magnetica Transcranica ha riguardato le difficoltà riscontrate nell'attivare l'area motoria corticale relativa alla gamba, area che soprattutto nella SLA presenta una dimostrata maggiore sensibilità diagnostica. Ciò può dipendere dalla relativa inaccessibilità fisiologica a livello corticale dell'area motoria della gamba che, secondo la rappresentazione somatotopica, è situata nelle strutture più profonde della corteccia per cui risulta più difficilmente eccitabile; inoltre può essere importante la potenza massima di scarica dello stimolatore magnetico.

Terao et al, 1994 hanno superato nel loro studio tali difficoltà concludendo che la più efficace modalità di stimolo dell'area motoria della gamba era con coil ad otto grande; infatti tale tipo di coil, associato ad uno stimolatore ad alta potenza quale quello da loro utilizzato, è stato capace di produrre un "vortice di corrente" nella

parte più profonda della corteccia e quindi attivare l'area motoria della gamba generando delle risposte di ampiezza maggiore e con soglie di attivazione più basse rispetto agli stimolatori magnetici circolari.

Gli stimolatori magnetici di nuova generazione sono stati però in grado di superare in pochi anni anche queste iniziali limitazioni: ad oggi infatti risultano di sufficiente potenza anche i coil circolari pur erogando un flusso di stimolazione maggiormente disperso rispetto ai coil ad otto od a farfalla.

La continua evoluzione delle apparecchiature ci permette pertanto di affinare sempre più le tecniche di indagine ed ecco che anche nuove e diverse metodiche possono affiancarsi alle tradizionali contribuendo in maniera significativa ad una maggiore accuratezza diagnostica: è questo il caso anche della Stimolazione Magnetica Transcranica.

Lo studio delle vie motorie centrali consiste tradizionalmente nella stimolazione transcranica della corteccia motoria con possibile registrazione di Potenziali Evocati Motori (PEM) sia a livello epidurale con elettrodi ad ago o meno invasivamente a livello di muscoli target degli arti o dell'area craniale con elettrodi di superficie.

La valutazione elettrofisiologica si basa generalmente sulla valutazione della soglia di stimolazione, ossia sulla minima intensità di stimolazione richiesta per ottenere un PEM da un muscolo rilasciato valutandone il grado di eccitabilità corticale, sulla misurazione della latenza e dell'ampiezza del PEM, sul rapporto di ampiezza tra PEM corticale e CMAP periferico, sul calcolo del Tempo di Conduzione Motorio Centrale (TCMC).

Negli ultimi anni la valutazione elettrofisiologica delle vie motorie centrali si è avvalsa dell'introduzione di più recenti tecniche che contribuiscono oggi in maniera significativa nell'individuare

precocemente segni di anormalità. Queste sono rappresentate dalla misurazione del Periodo Silente (SP), dalla stimolazione da doppio stimolo, ed ultimamente anche dalla tecnica da “**triplice stimolo**” di cui tratteremo più avanti.

Ritornando alle valutazioni elettrofisiologiche di più consolidato e diffuso impiego clinico risulta di fondamentale importanza soffermarsi sul calcolo del Tempo di Conduzione Motorio Centrale (TCMC).

Quest’ultimo viene ottenuto sottraendo dalla latenza del PEM corticale la latenza del potenziale muscolare evocato dopo stimolazione a livello bulbare, cervicale o lombare (**metodo diretto**).

Tuttavia presso molti laboratori, tra cui il nostro, derivando dagli arti si calcola il TCMC utilizzando la latenza dell’onda F che, dimezzata, rappresenta la latenza dal secondo motoneurone al muscolo target, e che viene sottratta dal tempo di conduzione totale corteccia-muscolo (**metodo indiretto**).

Tale metodo, utilizza la seguente formula:

$$\text{TCMC} = \text{Latenza MEP} - \frac{\text{Lat. F} + \text{Lat. M} - 1}{2}$$

dove con Lat. F si indica la latenza minima dell’onda F che rappresenta la risposta spinale dei motoneuroni alfa conseguente alla loro attivazione antidromica; con Lat. M si indica il potenziale d’azione composto evocato in un muscolo target mediante uno stimolo elettrico applicato sovramassimalmente al suo nervo motore; nella formula, poi, viene anche considerato il ritardo, a livello spinale, corrispondente al tempo di depolarizzazione dei motoneuroni alfa stimato in 1.0 msec.

I vantaggi del metodo indiretto, soprattutto per la valutazione funzionale della via motoria centrale relativa agli arti inferiori (a partire dalla corteccia motoria fino al segmento midollare lombare), sono oramai evidenti in letteratura in quanto, come riferito per primo da Booth et al. (1991), per il calcolo del TCMC col metodo diretto si ottengono valori significativamente più lunghi rispetto al calcolo col metodo indiretto. La probabile spiegazione di tale differenza, è nell'impossibilità di stimolare con precisione il midollo spinale lombosacrale direttamente mediante coil magnetico, perché con tale metodica si ecciterebbero le radici motorie lombosacrali includendo erroneamente nel calcolo del TCMC sia il tempo impiegato nella trasmissione sinaptica tra primo e secondo motoneurone all'interno del midollo lombare, sia un tempo di conduzione periferico nelle radici motorie prossimali al punto di stimolazione.

Bisogna tuttavia ricorrere ancora al metodo diretto quando si decide di calcolare il TCMC derivando il PEM da un muscolo del tratto bulbare ad esempio il trapezio capo superiore; infatti, non essendo in questo caso possibile ottenere una lat. F dalla stimolazione di un tronco nervoso periferico, bisogna utilizzare il metodo di calcolo diretto.

Relativamente alla soglia di eccitabilità corticale, questa in accordo con numerosi studi in letteratura, si ottiene dalla ricerca della minima intensità di stimolazione richiesta per ottenere un PEM a muscolo rilasciato dopo registrazione di almeno cinque risposte motorie certe e sovrapponibili per latenza su un totale di dieci stimoli successivi (M.D. Caramia et al, 1989).

La misurazione della latenza del PEM prevede la stimolazione della corteccia motoria fino al massimo output di intensità (100%) dello stimolatore prima a muscolo rilasciato, poi durante una moderata contrazione volontaria del muscolo in studio (facilitazione). Il PEM

quando ottenuto con facilitazione (C.F.) si presenta di latenza ridotta e di ampiezza incrementata.

Ciò è dovuto a meccanismi di facilitazione spinali e corticali attivati da inputs propriocettivi: questo aspetto è da tener presente durante l'esecuzione dell'esame per giudicare correttamente la normalità delle risposte ottenute.

Le ampiezze vengono misurate picco-picco e, nella valutazione, si tiene conto anche della morfologia (bifasica, trifasica o polifasica) del potenziale ottenuto.

In ultimo di particolare rilievo risulta anche la valutazione del rapporto d'ampiezza tra il PEM ottenuto da stimolazione corticale ed il CMAP derivato dallo stesso muscolo dopo stimolazione elettrica del nervo periferico.

In tutti i pazienti fondamentale risulta infine il confronto controlaterale tra i risultati così ottenuti: infatti data l'ampia variabilità interindividuale dei valori di latenza e di ampiezza, delle risposte, in parte dovute a diversità antropometriche, è consigliabile sempre valutare l'asimmetria di lato delle risposte che non risente di tale variabile.

I PEM sono utilizzati nella pratica clinica prevalentemente per studiare la conducibilità lungo le vie cortico-spinali o cortico-bulbari. Essi tuttavia hanno fornito, soprattutto recentemente, applicazioni tecniche in grado di studiare l'eccitabilità corticale, i meccanismi inibitori ed eccitatori sul controllo motorio, la fatica "centrale", e non ultimo, la plasticità corticale.

Alcune di queste applicazioni sono state utilizzate per accrescere la sensibilità diagnostica dei PEM, altre per conoscere i meccanismi fisiologici e patologici del movimento.

2.2 Lo studio del primo motoneurone: La Stimolazione Magnetica Transcranica ed i Potenziali Evocati Motori

d) I PEM nella SLA

Dato che nella SLA le disfunzioni dei motoneuroni corticali si accompagnano ad un coinvolgimento anche del tratto cortico-spinale e/o cortico-bulbare, evidenze cliniche di deficit di primo motoneurone possono essere difficili da individuare, particolarmente quando anche la compromissione del secondo motoneurone è già severa, e, sempre che, le modificazioni corticali, inclusa la perdita delle cellule di Betz ed il ridimensionamento di altre cellule neuronali (ad es. gli interneuroni), non siano anch'esse severe (Sasaki et Iwata, 1999).

Studi di immunoistochimica hanno infatti rivelato anomalie nella corteccia motoria, non riscontrate con l'utilizzo delle tecniche convenzionali, che accadrebbero anche rapidamente in questi pazienti (Leigh et Swash, 1991; Eisen et Weber, 2001).

Numerose tecniche neurofisiologiche oggi disponibili sono pertanto particolarmente utili nella conferma di un coinvolgimento dei motoneuroni superiori al punto che alcune di esse sono state d'aiuto anche nella comprensione della fisiopatologia del primo motoneurone (Eisen et Swash, 2001). Vari metodi possono essere ad oggi utilizzati per valutare *l'eccitabilità della corteccia motoria nella SLA*: questi comprendono **“la soglia di eccitabilità corticale”** ossia la minima intensità richiesta per stimolare la corteccia motoria (Ths), più di recente la misurazione del **“periodo silente”** (SP), e la stimolazione

da “**doppio stimolo**” o stimolo-accoppiato ed ultimamente anche la tecnica da “**triplice stimolo**”.

Nel corso degli ultimi anni diversi studi in pazienti con SLA hanno riscontrato dopo TMS genericamente un’assenza od una attenuazione dell’eccitabilità corticale a seconda della fase di malattia.

Per contro altri studi più recenti sempre sull’eccitabilità corticale dopo TMS hanno evidenziato, soprattutto nelle primissime fasi di malattia, una ipereccitabilità corticale, che, monitorata nel tempo ed in base alla progressione di malattia, virava successivamente verso una ipoeccitabilità. In questa ipotesi la corteccia motoria e le aree corticali immediatamente circostanti sembrerebbero ipereccitabili soprattutto nelle fasi iniziali di malattia: questo aumento nell’eccitabilità corticale sarebbe però il riflesso di un’ipereccitabilità dei motoneuroni corticali associata ad una ridotta inibizione corticale dovuta alle disfunzioni di circuiti locali di interneuroni inibitori (Zanette et al,2002; 2008).

Risulta però ancora non chiaro, ad oggi, se il reperto iniziale di una ridotta soglia motoria ai PEM, comunque sintomo di un’alterata eccitabilità corticale, rifletta più specificamente una diminuzione dell’inibizione od un incremento dell’eccitazione, o più probabilmente, entrambi i meccanismi.

Il risultato finale resta quello che con la progressione della malattia la soglia corticale ai PEM aumenta significativamente fino a quando non è più possibile ottenere un PEM o perché la soglia per stimolare la corteccia motoria è divenuta maggiore della potenza massima di scarica dello stimolatore magnetico (Caramia et al. 1991, Eisen et al. 1993) o perché nel frattempo è subentrata una ipotrofia muscolare talmente marcata che non è più possibile derivare una risposta ai PEM da muscoli target.

Se confrontiamo invece l'ampiezza del PEM ottenuto in un soggetto normale dopo TMS, con l'ampiezza del CMAP ottenuto sempre dallo stesso muscolo per stimolazione elettrica sovramassimale di un tronco nervoso periferico, vedremo come il primo (PEM) risulti quasi sempre sensibilmente più piccolo del secondo (CMAP) : questa, a primo avviso semplice osservazione, merita però qualche considerazione più approfondita. E' difatti vero che normalmente il rapporto d'ampiezza del PEM rispetto a quella del CMAP sia minore, e ciò si ritiene sia dovuto ad una variazione della desincronizzazione della vollée, che discendendo, causa maggiori o minori gradi di annullamento di fase del segnale, ma è altrettanto vero, però, che nei pazienti con SLA, rispetto ai soggetti normali, tale rapporto d'ampiezza (PEM vs CMAP) si riduca, in maniera percentuale, molto di più.

Da una disamina dei valori ottenuti in pazienti con SLA si stima che la maggiore diminuzione percentuale nell'ampiezza del PEM rispetto al CMAP, (dato che nel nostro laboratorio acquista valenza patologica quando, derivando ad esempio da Abductor Hallucis, il PEM diminuisce di oltre il 90% rispetto al CMAP), rifletta una perdita di funzionalità di parte dei motoneuroni corticali o del tratto corticospinale.

Per di più, se si considera, la non rara possibilità che lo stimolo magnetico non sia erogato nella sede più ottimale di stimolazione per l'area motoria corrispondente al muscolo target in esame, si comprende come molta letteratura in passato abbia concluso per una limitata sensibilità del parametro ampiezza, rispetto ad altri criteri, nel rilevare una patologica conduzione del tratto cortico-spinale e/o cortico-bulbare.

La TMS, d'altra parte, resta a nostro avviso una tecnica estremamente operatore-dipendente e ciò è probabilmente la principale causa di disomogeneità nei risultati ottenuti da diversi studi nella valutazione dell'ampiezza del PEM in valore assoluto od in rapporto all'ampiezza del CMAP.

Discorso omologo si pone quando oggetto della nostra disamina diviene il tratto cortico-bulbare: in questo caso, nel nostro laboratorio, derivando da muscolo trapezio capo superiore valutiamo il rapporto d'ampiezza PEM corticale/PEM periferico ottenuto con metodo diretto da entrambi gli stimoli magnetici. Presso altri laboratori è in uso invece il confronto tra le ampiezze del PEM corticale e del CMAP periferico in maniera del tutto simile a quanto avviene derivando dagli arti.

Resta di sicuro orientamento, per qualsivoglia muscolo e tratto indagato, il confronto controlaterale nello stesso paziente, che se presenta valori sensibilmente differenti, può avvalorare in maniera altamente significativa una diminuzione del rapporto d'ampiezza (PEM/CMAP derivando dagli arti o PEM corticale/PEM periferico derivando dall'area bulbare), diminuzione che da sola, potrebbe non fornire, soprattutto nelle prime fasi di malattia, la necessaria sicurezza diagnostica.

Per lo studio del Periodo Silente (SP) lo stimolo magnetico va applicato alla corteccia motoria primaria durante una contrazione volontaria attiva "continua", meglio se massima, di un muscolo target. Ciò induce una pausa nell'attività elettromiografica di durata variabile, ma mediamente intorno ai 120 msec. I muscoli classicamente indagati con tale tecnica sono solitamente quelli della mano, Abduktore Breve del Pollice in primis. Lo stimolo applicato deve essere solitamente di intensità superiore al 120-150% della soglia

motoria e ciò è fondamentale per riuscire ad ottenere un SP ripetibile e, con inizio e fine improvvisa onde consentirne una precisa misurazione.

I meccanismi neurofisiologici che sottostanno alla registrazione di un SP sono multifattoriali, complessi e, ad oggi, compresi solo in parte : il fattore predominante sembrerebbe essere dovuto a meccanismi inibitori corticali mediati attraverso interneuroni del circuito locale intracorticale.

Nella SLA la durata del SP è ridotta, ma l'interpretazione può essere difficile in pazienti con soglia corticale alta per il limite di non riuscire a somministrare uno stimolo sufficientemente forte come può presentarsi nelle fasi avanzate di malattia o quando ci si trova di fronte ad una PLS o ad una UMN dominant-ALS.

La perdita dei meccanismi di inibizione corticale può anche essere dimostrata usando la tecnica del **“doppio stimolo”** o stimolo-accoppiato, che prevede la somministrazione in un intervallo molto breve (da 1 a 4 msec) di uno stimolo “condizionante” seguito dal vero e proprio stimolo “test” .

Dopo aver somministrato uno stimolo condizionante ad una intensità “sotto-soglia”, lo stimolo test, che segue dopo pochi millisecondi, genera un'attenuazione della risposta corticale nei soggetti normali. L'effetto di condizionamento è dovuto dall'insieme di meccanismi eccitatori ed inibitori del circuito locale corticale. A verifica di quanto detto, lo stesso fenomeno di attenuazione non si presenta ad esempio dopo stimolazione elettrica cerebrale perché in questo caso ad essere stimulate sono direttamente le strutture post-sinaptiche.

Nella SLA l'inibizione indotta dallo stimolo condizionante è marcatamente ridotta od assente (Salerno and Georgesco, 2001).

Il riluzolo, un antagonista del glutammato, è stato indicato proprio per correggere questa anomalia nella SLA (Stefan 2001).

Più di recente è stata sviluppata la **tecnica da triplice stimolo magnetico (TST)** che, permettendo una risincronizzazione del PEM, fornirebbe informazioni quantitative molto più stabili mediante una misura proporzionale delle unità motorie attivate .

In tal modo questa recente applicazione ha dimostrato di essere un metodo sensibile per documentare le anomalie del primo motoneurone nella SLA anche in rapporto al parametro ampiezza discusso in letteratura.

Altra metodica di ultima diffusione che si avvale del principio della Stimolazione Magnetica Transcranica è la Stimolazione ripetitiva da Stimolo Magnetico (rTMS), utilizzata però non a fini diagnostici quanto a scopo terapeutico in diverse patologie neurologiche e psichiatriche.

Se i primi risultati riportati in letteratura si sono dimostrati dubbiosi sui reali benefici riabilitativi apportati dall'introduzione di questa metodica, successivamente il riscontro di effettivi miglioramenti, anche se solo transitori, nelle prestazioni di alcuni pazienti, sono stati incoraggianti ed hanno aumentato l'interesse per la "repetitive Transcranial Magnetic Stimulation" (rTMS).

In particolare nelle malattie neurodegenerative come la SLA ed il Morbo di Parkinson l'utilizzo della rTMS è stata suggerita per modificare il ritmo di progressione della malattia migliorando in questi pazienti, anche se solo transitoriamente, le performance motorie e riducendo l'affaticabilità. E' stato dimostrato infatti che una rTMS a bassa frequenza ($\leq 1\text{Hz}$) produce una prolungata diminuzione nell'eccitabilità della corteccia motoria e potrebbe ridurre così l'eccitotossicità indotta dal glutammato.

Al contrario una rTMS ad alta frequenza (> 5Hz) provoca un incremento di breve durata nell'eccitabilità corticale: l'alta frequenza potrebbe avere effetti neuroprotettivi ed incrementare l'espressione di fattori neurotrofici .

Evidenze sperimentali suggeriscono che l'insieme di rTMS ad alta e bassa frequenza potrebbero essere in tal modo di beneficio nella SLA almeno come terapia sintomatica Zanette et al.,2008 (ma ciò resta attualmente oggetto di dibattito in letteratura).

L'utilizzo ad oggi della rTMS comprende in letteratura il trattamento di psicosi, il disturbo ossessivo e bipolare, la depressione e, più di recente la demenza di Alzheimer e la SLA.

Anche la Food and Drug Administration statunitense (Fda) ha approvato l'utilizzo della rTMS in seguito ad una sperimentazione condotta da Janicak P. et al., 2008 della Rush University di Chicago che ha trattato, con risultati soddisfacenti, pazienti con depressione per un periodo di 4-6 settimane con sedute quotidiane di 40 minuti. Le uniche limitazioni indicate all'uso della rTMS dalla Fda sono state il trattamento concomitante con triciclici e/o neurolettici, l'essere affetti da cardiopatie, l'essere gravide, e soprattutto, avere familiarità per epilessia.

3. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Il riconoscimento della SLA ancora oggi risulta spesso difficile in quanto la maggior parte dei pazienti all'esordio presenta solo sintomi focali limitati ad una, od al massimo, due regioni .

Tra i distretti di esordio circa il 66% riferisce sintomi agli arti inferiori, circa il 29% riferisce un esordio bulbare, mentre solo il 5% lamenta deficit agli arti superiori.

L'intervallo medio esordio-diagnosi, a seconda del sottotipo clinico, può avere durata molto variabile arrivando addirittura per le PLS (con puro interessamento del I° motoneurone) a circa 38 mesi.

E' stato stimato inoltre che circa il 10% dei pazienti con SLA riceve diagnosi iniziali errate (Traynor, 2000).

La Neurofisiologia, come naturale estensione dell'esame neurologico, rappresenta sempre più un indispensabile riferimento per il più precoce riconoscimento ed il più accurato inquadramento in sottotipi delle varie forme di SLA.

Tra i vari distretti muscolari da esplorare, il distretto bulbare è sempre stato quello più difficilmente valutabile e, considerando che tale regione rappresenta l'esordio sintomatico di circa il 29% delle SLA indifferenziate, si comprende bene l'importanza di migliorare le tecniche di indagine soprattutto in tale sede.

Inoltre bisogna tenere presente che, mentre l'EMG del distretto bulbare, pur se con maggiori limiti interpretativi rispetto alla valutazione in altre sedi, fornisce comunque una precisa misura dell'impegno del II° neurone di moto, i PEM del distretto bulbare non permettono di effettuare una valutazione parimente chiarificatrice ed

esaustiva del I°, lasciando spesso zone d'ombra sul possibile coinvolgimento del motoneurone corticale.

In letteratura vi sono stati pochi studi che, con metodiche diverse, hanno riportato una maggiore sensibilità diagnostica nella valutazione del I° motoneurone quando i PEM, registrati dal distretto bulbare, venivano derivati dal muscolo trapezio capo superiore.

Scopo prioritario del nostro studio è stato:

- valutare il grado di sensibilità diagnostica dei PEM da muscolo trapezio capo superiore in un gruppo di pazienti con SLA in primis nella forma bulbare.
- verificarne il potenziale contributo (anche meramente confermativo) negli altri sottotipi in osservazione.
- calcolare anche per la via cortico-bulbare (così come già avviene per la cortico-spinale) un Tempo di conduzione motoria centrale (TCMC) più aderente al reale tempo di trasmissione dell'impulso dal I° al II° motoneurone (metodo diretto), contrariamente a quanto sinora effettuato da altri studi in letteratura.
- eseguire un'attenta valutazione della cd. amplitude ratio ossia sul rapporto d'ampiezza tra stimolo corticale e stimolo periferico con lo stesso metodo utilizzato anche per il calcolo del TCMC.
- eseguire il confronto tra le ampiezze del PEM da noi ottenuto per stimolo magnetico del II° motoneurone (metodo diretto) con quello del CMAP ottenuto per stimolo elettrico sovramassimale del nervo accessorio spinale in sede retromastoidea (metodo indiretto).

Per via riflessa abbiamo conseguito altri obiettivi quali:

- la creazione di una propria normativa di parametri PEM da muscolo trapezio capo superiore per la valutazione in particolare del TCMC con metodo diretto e del rapporto d'ampiezza PEMM corticale/PEMM periferico (c.d. amplitude ratio) entrambe ottenute da stimolo magnetico in un gruppo di controllo;
- il confronto tra i nostri dati e quelli conseguiti in studi precedenti pur se con metodiche differenti;
- il confronto tra i risultati ottenuti nei sottogruppi SLA in osservazione con quelli valutati in un piccolo gruppo di pazienti con "Altre Patologie".

4. MATERIALE E METODI

a) Strumentazione e tecniche utilizzate

Per l'esecuzione dei PEM abbiamo utilizzato uno stimolatore magnetico "MagPro Compact" della Medtronic capace di indurre un campo magnetico transitorio fino ad oltre 2 Tesla, collegato ad un coil circolare del diametro esterno di 13 cm .

L'acquisizione e l'analisi dei dati del PEM è stata effettuata con l'elettromiografo "Keypoint 4" sempre della ditta Medtronic.

I Potenziali Evocati Motori per indagare il tratto cortico-bulbare sono stati registrati dal muscolo trapezio capo superiore di destra e di sinistra mediante elettrodi di superficie autoadesivi della ditta Carefusion (Fig. 3).

Il coil erogante stimoli bifasici è stato posizionato orizzontalmente sullo scalpo: la sede ottimale per la stimolazione della corteccia motoria primaria relativa alla regione bulbare è stata individuata all'altezza del vertice secondo il sistema internazionale (S.I.) 10/20 nel punto denominato Cz.

Per quanto riguarda la stimolazione periferica è stato individuato come miglior punto di reperi il sito immediatamente sottostante l'inion, che secondo il S.I. 10/20 corrisponde alla prominente situata alla base dell'osso occipitale (tale scelta ci ha anche consentito di stimolare rigorosamente in tutti i soggetti lo stesso punto).

Il tempo di analisi scelto per le registrazioni è stato di 50 msec; l'amplificazione veniva modificata a seconda dell'ampiezza dei potenziali registrati.

La banda passante utilizzata è stata di 2-2000 Hz.

I parametri analizzati sono stati i seguenti:

- 1) La soglia del PEM;
- 2) La latenza, morfologia ed ampiezza dei PEM ottenuti a riposo (S.F.) e con facilitazione (C.F.) da stimolo corticale;
- 3) La latenza, morfologia ed ampiezza dei PEM ottenuti a riposo (S.F.) da stimolo periferico;
- 4) Il TCMC calcolato con il metodo diretto;
- 5) Il rapporto di ampiezza tra PEM corticale e PEM periferico (cd. Amplitude ratio);
- 6) Latenza ed ampiezza del CMAP ottenuto da stimolo elettrico del nervo accessorio spinale in sede retromastoidea omolaterale al sito registrante;
- 7) Confronto delle ampiezze tra il PEM da stimolo magnetico periferico ed il CMAP da stimolo elettrico retromastoideo;
- 8) In ultimo il confronto controlaterale dei dati ottenuti.

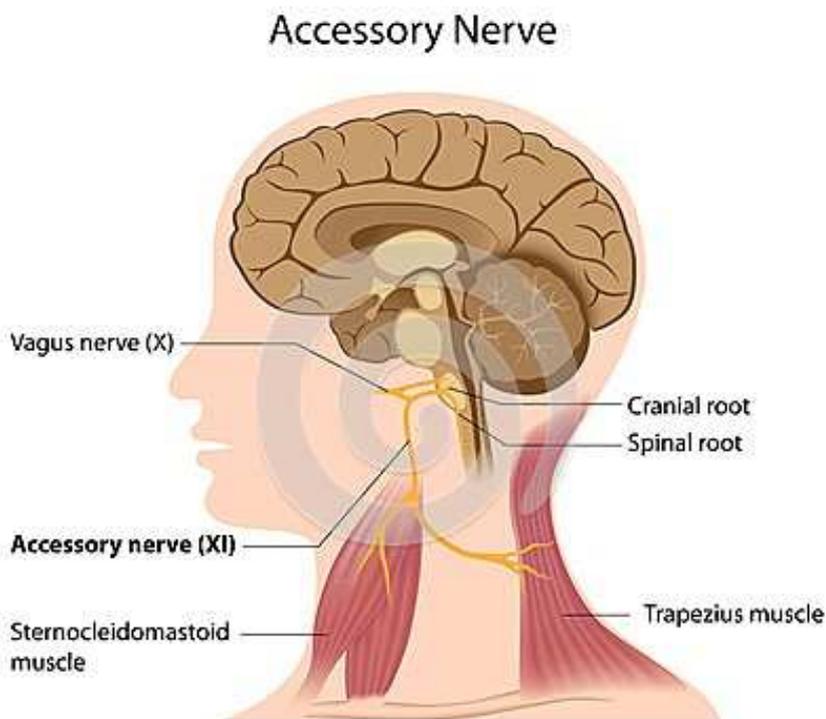


Fig. 3 Vie di innervazione del m. trapezio capo superiore.

b) Popolazione in studio

La popolazione presa in esame consisteva innanzitutto di 31 controlli (13 maschi e 18 femmine) di età media pari a 53.3 ± 15 anni. Non vi era differenza significativa ($p=0.48$) nell'età media fra maschi (61.6 ± 17 anni) e femmine (57.6 ± 14 anni).

Sono stati valutati 55 pazienti con diagnosi di SLA (o sospetto diagnostico con conferma successiva) suddivisi a seconda del sottotipo clinico in 4 gruppi :

- **16 SLA BULBARI** (12 femmine e 4 maschi) di età media pari a 64.4 ± 9.9 anni.;
- **27 SLA TIPICHE** (5 femmine e 22 maschi) di età media pari a 62.7 ± 14 anni;
- **8 FLAIL ARM or LEG** (3 femmine e 5 maschi);
- **4 PMA** (2 femmine e 2 maschi).

Si è poi valutato un gruppo misto di “Altre Patologie” costituito da 19 pz. (11 femmine ed 8 maschi) per confrontare le possibili alterazioni date ai PEMM da altre patologie rispetto a quelle del gruppo SLA. Gruppo “Altre Patologie” così costituito in base alla successiva diagnosi: 6 Paraparesi, 2 Mielopatie, 2 Malattie Infiammatorie del S.N.C., 1 Eredotassia spastica, 1 Degenerazione cortico-basale, 1 Sclerosi Combinata sub-acuta, 1 Poliradicoloneuropatia assonale, 1 Neuropatia tipo HNPP, 1 Miosite corpi inclusi, 1 Cerebellite autoimmune, 1 Parkinsonismo, ed 1 Forma mielo-radicolare post-infettiva primaria o secondaria.

**c) Suddivisione del campione in sottotipi clinici
(classificazione secondo El Escorial-rivisti)**

I pazienti arruolati nello studio avevano una recente diagnosi di SLA o un sospetto diagnostico al momento dell'esecuzione del PEM con conferma di diagnosi successiva.

Sono stati classificati in base al fenotipo nei seguenti sottotipi clinici:

- sclerosi laterale amiotrofica (forma tipica);
- sclerosi laterale primaria (PLS);
- paralisi bulbare progressiva (PBP);
- atrofia muscolare progressiva (PMA);
- “flail arm or leg” syndrome;
- UMN dominant-ALS.

Secondo i criteri di El Escorial-rivisti abbiamo individuato nel gruppo PBP costituito da 16 pazienti rispettivamente 2 casi di SLA clinicamente sospetta, 6 di clinicamente possibile ed 8 di clinicamente probabile con conferma di laboratorio.

Nel gruppo SLA tipica costituito da 27 pazienti rispettivamente abbiamo individuato 7 casi di clinicamente sospetta, 19 di clinicamente probabile con conferma di laboratorio ed 1 di clinicamente probabile.

Nel gruppo “flail arm or leg” syndrome costituito da 8 pazienti rispettivamente abbiamo individuato 5 casi di clinicamente sospetta e 3 di clinicamente possibile.

Nel gruppo PMA costituito di soli 4 pazienti abbiamo individuato tutti i casi nella forma di SLA clinicamente sospetta.

Nel campione preso in esame non erano rappresentati i sottotipi PLS ed UMN dominant-ALS probabilmente sia per il più raro riscontro di tali fenotipi sia per il loro possibile frequente viraggio verso una SLA tipica nella progressione di malattia.

Tutte le diagnosi sono state ricontrollate in accordo con i criteri di El Escorial-rivisti (Brooks *et al.*, 2000) attraverso la valutazione delle cartelle cliniche e le visite di controllo eseguite presso l'ambulatorio dedicato.

Secondo tali criteri 18 pazienti (32,7%) presentavano una SLA clinicamente sospetta, 9 pazienti (16,3%) una SLA clinicamente possibile, 27 pazienti (49,1%) una SLA clinicamente probabile con conferma di laboratorio, ed 1 paziente (1,8%) una SLA clinicamente probabile. Nessun paziente presentava una SLA clinicamente definita: tale dato risulta verosimilmente spiegabile per il recente esordio sintomatico nei pazienti sottoposti allo studio.

Nella fig. 3 rappresentiamo la suddivisione di tutti i pazienti con SLA esaminati suddivisi secondo i criteri diagnostici El Escorial-rivisti (**Brooks *et al.*, 2000**)

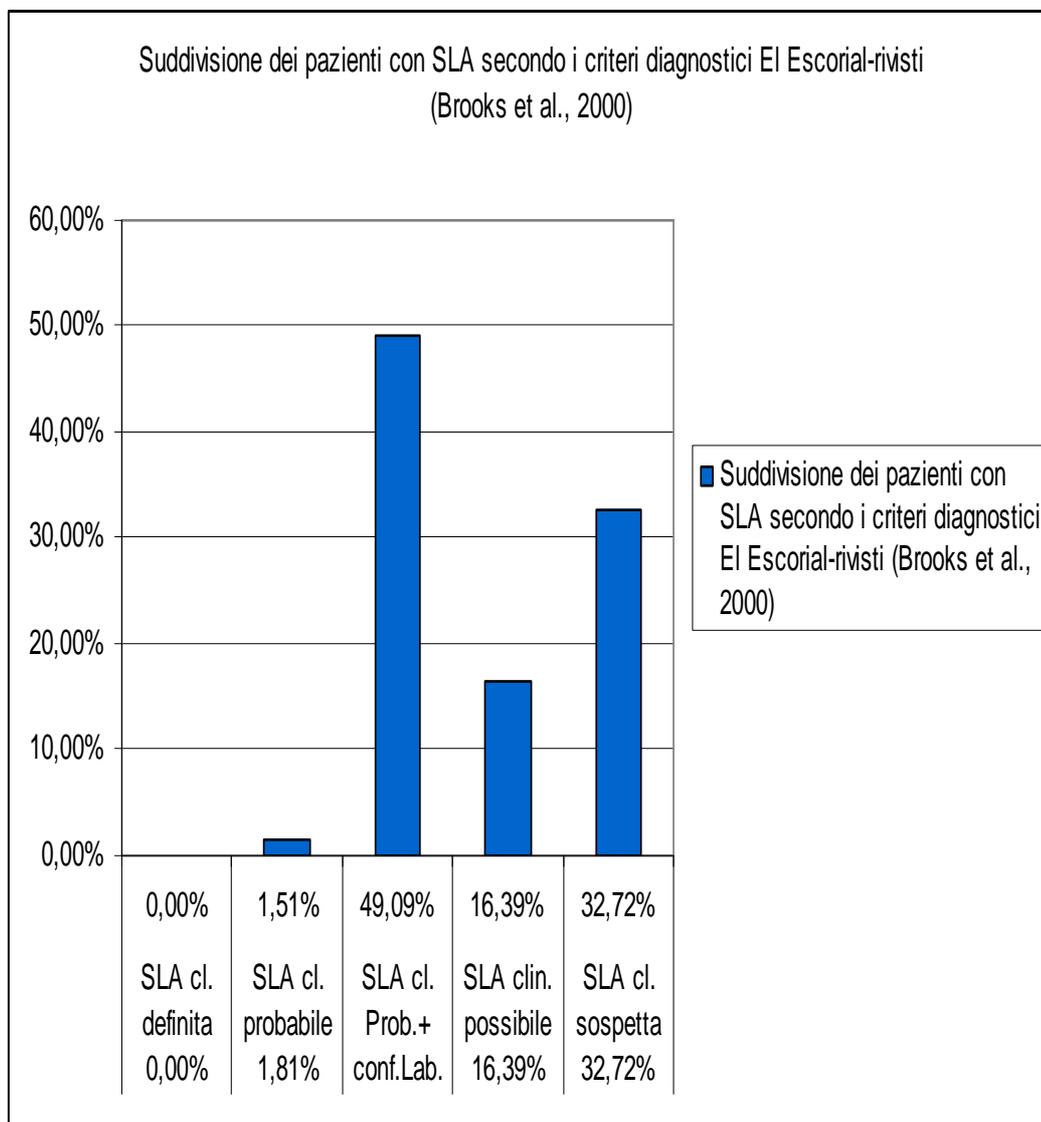


Fig. 3

5. RISULTATI

5.1 Dati Normativi.

Nel gruppo di controllo i risultati indicano che esiste una correlazione diretta nel caso dei PEM ed una inversa nel caso delle ampiezze (cioè le latenze tendono ad aumentare e le ampiezze a diminuire con l'età). Tutti i PEMM SUPERIORI al 99° percentile sono stati considerati patologici e tutte le AMPIEZZE INFERIORI al 1° percentile sono state considerate patologiche. (Tabella B)

Tabella B: Normativa

	N casi	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Percentili				Dev.Std.
						1	99	5	95	
PEMM CORT MEDIA	31	8,58	8,55	7,25	9,95	7,25	<u>9,95</u>	7,30	9,75	0,68
PEMM PERIF. Mag. MEDIA	31	3,75	3,85	3,00	4,20	3,00	<u>4,20</u>	3,00	4,20	0,33
PEMM ACC el. MEDIA	31	2,81	2,80	2,15	3,35	2,15	<u>3,35</u>	2,45	3,20	0,21
TCMC DIRETTO MEDIA	31	4,83	4,75	3,65	5,95	3,65	<u>5,95</u>	3,90	5,75	0,59
AMPL CORT MEDIA	31	10,39	10,20	5,40	18,80	<u>5,40</u>	18,80	5,95	14,55	2,73
AMPLPERIF. Mag. MEDIA	31	12,30	12,20	7,70	16,80	<u>7,70</u>	16,80	7,85	16,80	2,52
AMPL ACC el. MEDIA	31	12,05	11,75	7,85	16,80	<u>7,85</u>	16,80	8,15	16,70	2,40
RAPP. AMP. CORT/PERIF.	31	0,86	0,81	0,54	1,75	<u>0,54</u>	1,75	0,64	1,16	0,22

Abbiamo pertanto considerato patologico un valore di TCMC > 5,9 ed un rapporto d'ampiezza CORT./PERIF. < 0,54

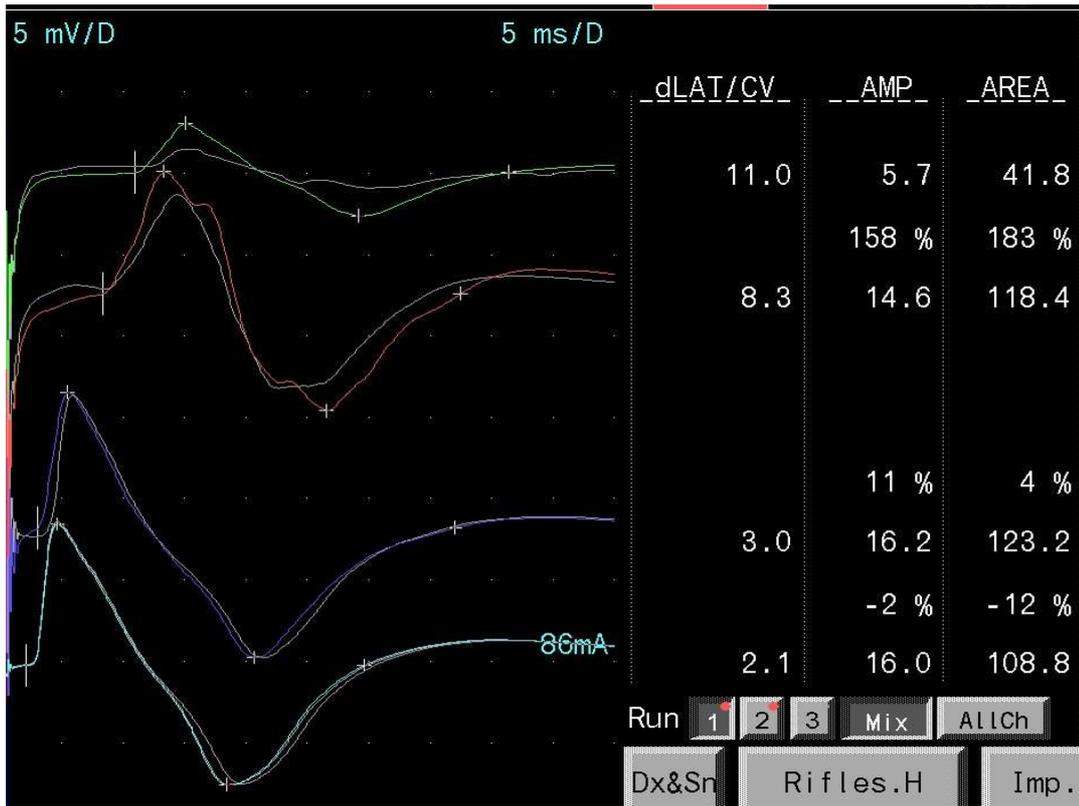


Fig. 4 : Esempio di PEM derivato da m. trapezio c.s. in normale

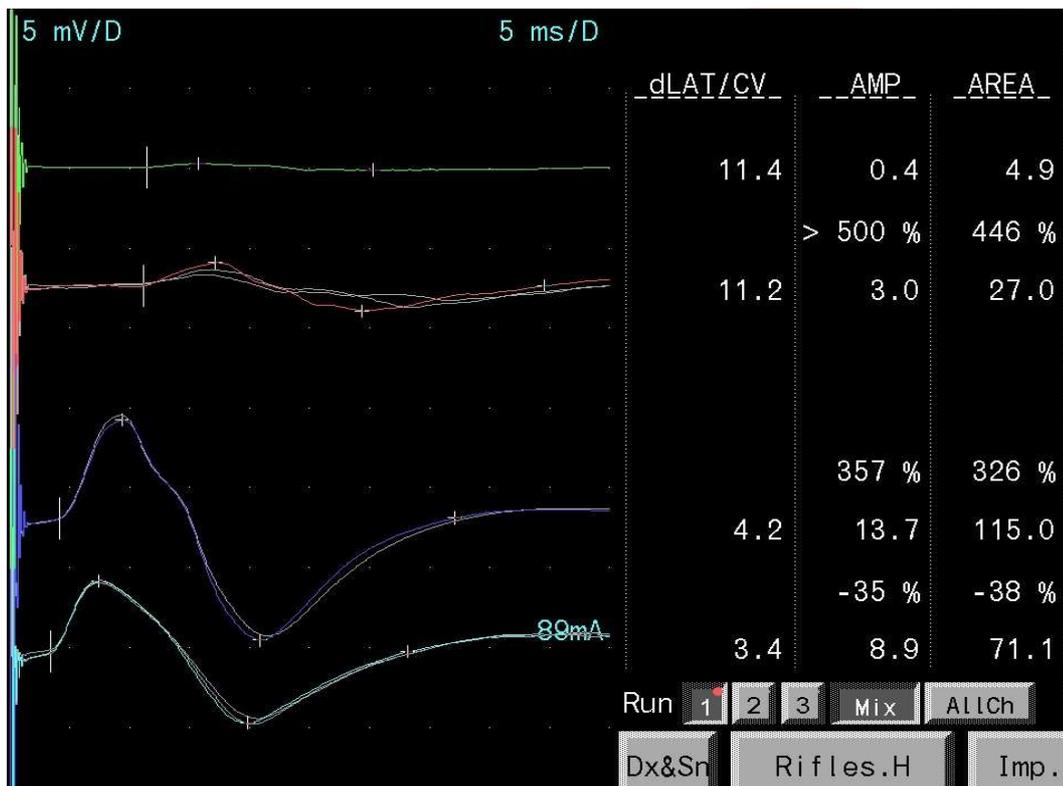


Fig. 5: Esempio di PEM derivato da m. trapezio c.s. in SLA Bulbare

5.2 Gruppo SLA Bulbare.

Risulta costituito da 16 pazienti (12 femmine e 4 maschi) di età media pari a 64.4 ± 9.9 anni.

In quasi il 70% dei casi vi sono stati almeno 4 parametri contemporaneamente alterati (Tabella C).

Nelle seguenti valutazioni vengono considerati singolarmente 8 parametri: PEM corticale, PEM periferico, ampiezza corticale ed ampiezza periferica per destri e sinistri .

Tabella C : Numero di parametri contemporaneamente alterati

Parametri alterati	Frequenze	Frequenze Cumulate	Percentuali	Percentuali Cumulate
1	3	3	18,75000	18,7500
2	1	4	6,25000	25,0000
3	1	5	6,25000	31,2500
4	3	8	18,75000	50,0000
5	3	11	18,75000	68,7500
6	3	14	18,75000	87,5000
7	1	15	6,25000	93,7500
8	1	16	6,25000	100,0000

Confrontando poi PEM Corticale con Periferico, si sono avute a destra: 22 alterazioni Corticali e 11 da Periferico e a sinistra 23 alterazioni Corticali e 12 da Periferico.

Quindi il Periferico è risultato alterato nel 50% dei casi rispetto al Corticale. La completa tabella (D) mostra il numero di alterazioni nel gruppo SLA Bulbare riscontrato:

Tabella D :

N° paz	DESTRA				SINISTRA				Numero di alterazioni		
	PEMM CORT	PEMM PERIF	AMP CORT	AMP PERIF	PEMM CORT	PEMM PERIF	AMP CORT	AMP PERIF	DX	SX	TOT
1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
2	0	0	1	0	0	1	1	1	1	3	4
3	1	0	1	1	1	1	1	0	3	3	6
4	1	0	1	1	1	0	1	0	3	2	5
5	1	1	0	0	0	1	0	0	2	1	3
6	1	0	1	0	1	1	1	1	2	4	6
7	1	0	0	0	1	0	1	1	1	3	4
8	1	0	1	1	1	0	1	0	3	2	5
9	1	1	1	0	1	1	1	0	3	3	6
10	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2
11	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	8
13	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
14	1	1	1	0	1	0	1	0	3	2	5
15	1	0	1	1	1	1	1	1	3	4	7
16	1	0	1	0	1	0	1	0	2	2	4
TOT riga	12	6	10	5	11	7	12	5	33	35	68

L'alterazione, come vedremo più avanti, del solo parametro TCMC in questo gruppo raggiungeva il 75% dei pazienti. Stessa percentuale di alterazione (75%) si raggiungeva considerando il solo parametro cd. amplitude ratio. Se ad entrambi tali parametri si aggiungeva anche il confronto controlaterale nello stesso soggetto investigato, un coinvolgimento veniva rilevato in 14 pazienti ossia nell' 87,5% dei pazienti investigati in T0.

Ripetendo il PEM a distanza, in un tempo T1 successivo, nei pazienti negativi alla prima valutazione, un coinvolgimento del primo motoneurone veniva, infine, obiettivato nel 100% dei pazienti di questo gruppo.

5.3 Gruppo SLA Tipica

E' costituito da 27 pazienti (12 femmine e 4 maschi) di età media pari a 62.7 ± 14 anni. La seguente tabella E mostra la distribuzione del numero di parametri contemporaneamente alterati nel gruppo:

Tabella E

N alterazioni	Frequenze	Frequenze Cumulate	Percentuali	Percentuali Cumulate
0	4	4	14,81481	14,8148
1	3	7	11,11111	25,9259
2	6	13	22,22222	48,1481
3	5	18	18,51852	66,6667
4	1	19	3,70370	70,3704
5	6	25	22,22222	92,5926
6	1	26	3,70370	96,2963
8	1	27	3,70370	100,0000

Nel 33% dei casi vi sono stati almeno 4 parametri contemporaneamente alterati. Vi sono inoltre 4 casi (15%) senza alcuna alterazione.

Il numero medio di alterazioni riscontrate nella SLA tipica è minore (2.9) di quello della SLA bulbare (4.25): tale differenza è significativa (p=0.048).

Inoltre abbiamo osservato nel gruppo SLA tipica che se alla valutazione da muscolo trapezio capo superiore si associa anche quella da arti inferiori, la sensibilità diagnostica aumenta in maniera evidente in questo sottogruppo (arrivando al 62,9 %), contrariamente a quanto osservato nelle forme bulbari, dove sostanzialmente, la valutazione

degli arti inferiori, non aggiungeva grandi contributi discriminatori dal punto di vista diagnostico.

Tutto ciò a dimostrazione che nella SLA, quando si ricorre ai PEM, risulta utile valutare in primis i distretti sintomatici riferiti dai pazienti ed eventualmente integrare poi l'indagine anche da siti routinari ed apparentemente integri.

Ecco la completa tabella F delle alterazioni nel Gruppo SLA Tipica:

Tabella F

N° paz	DESTRA				SINISTRA				Numero Alterazioni		
	PEMM CORT	PEMM PERIF	AMP CORT	AMP PERIF	PEMM CORT	PEMM PERIF	AMP CORT	AMP PERIF	DX	SX	TOT.
1	1	1	1	0	0	1	1	0	3	2	5
2	0	1	0	0	0	1	0	1	1	2	3
3	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	2
4	1	1	1	0	1	1	0	0	3	2	5
5	1	0	1	1	0	0	0	0	3	0	3
6	1	0	1	1	1	0	1	0	3	2	5
7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
8	0	1	0	1	0	1	0	0	2	1	3
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	8
12	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0	2
13	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
14	1	1	0	1	1	0	0	1	3	2	5
15	0	1	1	1	0	1	1	1	3	3	6
16	0	1	0	1	0	1	0	0	2	1	3
17	1	0	1	0	1	0	1	1	2	3	5
18	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	2
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	1	1	0	0	1	1	0	0	2	2	4
21	0	1	1	0	0	0	1	0	2	1	3
22	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
23	1	1	0	1	0	1	0	1	3	2	5
24	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	2
25	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	2
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	2
TOT RIGA	11	17	9	8	6	13	6	8	45	33	78

In questo gruppo il numero di alterazioni del PEMM corticale destro (11) è quasi il doppio del controlaterale (6).

5.4 Analisi del Tempo di Conduzione Motoria Centrale

Passando alla valutazione del parametro TCMC nei vari gruppi otteniamo i seguenti valori riassunti nelle tabelle G, H ed I che mostrano una distribuzione statisticamente significativa (**chi quadrato: p=0.003**) considerando i due lati ed una percentuale di alterazione sempre bilateralmente del 75% nel gruppo SLA Bulbare.

Tabella G : TCMC a destra

GRUPPO	TCMC alterato		Totali - Riga
	NO	SI	
SLA BULB	5	11	16
	31,25%	68,75%	
SLA TIPICA	19	8	27
	70,37%	29,63%	
PMA	2	2	4
	50,00%	50,00%	
FLAIL ARM	7	1	8
	87,50%	12,50%	
ALTRE PAT	13	6	19
	68,42%	31,58%	
Tutti	46	28	74

La distribuzione è statisticamente significativa (**chi quadrato:p<0.04**)

Quasi il 70% del TCMC sono alterati nel gruppo SLA bulbare, contro rispettivamente il 30% della SLA tipica ed il 12% della FLAIL ARM.

Tabella H : TCMC a sinistra

GRUPPO	TCMC alterato		Totali - Riga
	NO	<u>SI</u>	
SLA BULB	4	12	16
	25,00%	75,00%	
SLA TIPICA	18	9	27
	66,67%	33,33%	
PMA	1	3	4
	25,00%	75,00%	
FLAIL ARM	6	2	8
	75,00%	25,00%	
ALTRE PAT	16	3	19
	84,21%	15,79%	
Tutti	45	29	74

La distribuzione è ancora più significativa (chi quadrato: $p < 0.003$).

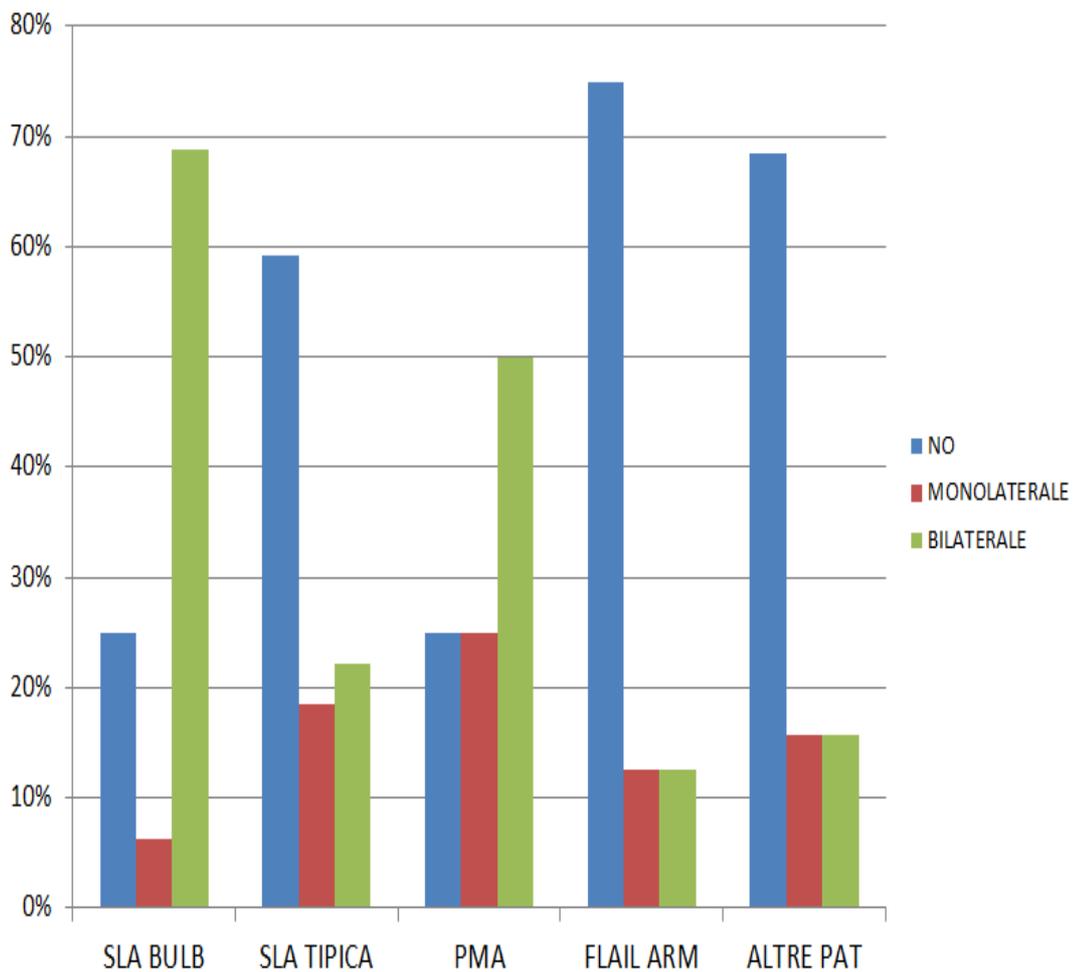
Tabella I : Considerando i due lati

GRUPPO	TCMC alterato			Totali - Riga
	NO	MONOLATERALE	BILATERALE	
SLA BULB	4	1	11	16
	25,00%	6,25%	68,75%	
SLA TIPICA	16	5	6	27
	59,26%	18,52%	22,22%	
PMA	1	1	2	4
	25,00%	25,00%	50,00%	
FLAIL ARM	6	1	1	8
	75,00%	12,50%	12,50%	
ALTRE PAT	13	3	3	19
	68,42%	15,79%	15,79%	
Tutti	40	11	23	74

Tale distribuzione è statisticamente significativa ($p = 0.03$).

Considerando solo il TCMC da entrambi i lati : il dato è alterato nel 75% del gruppo SLA bulbare, contro rispettivamente oltre il 40% della SLA tipica . A tal proposito il grafico seguente è molto chiaro:

Alterazioni del TCMC



5.5 Rapporto di Ampiezza Stim.Corticale/Periferico. (cd. amplitude ratio)

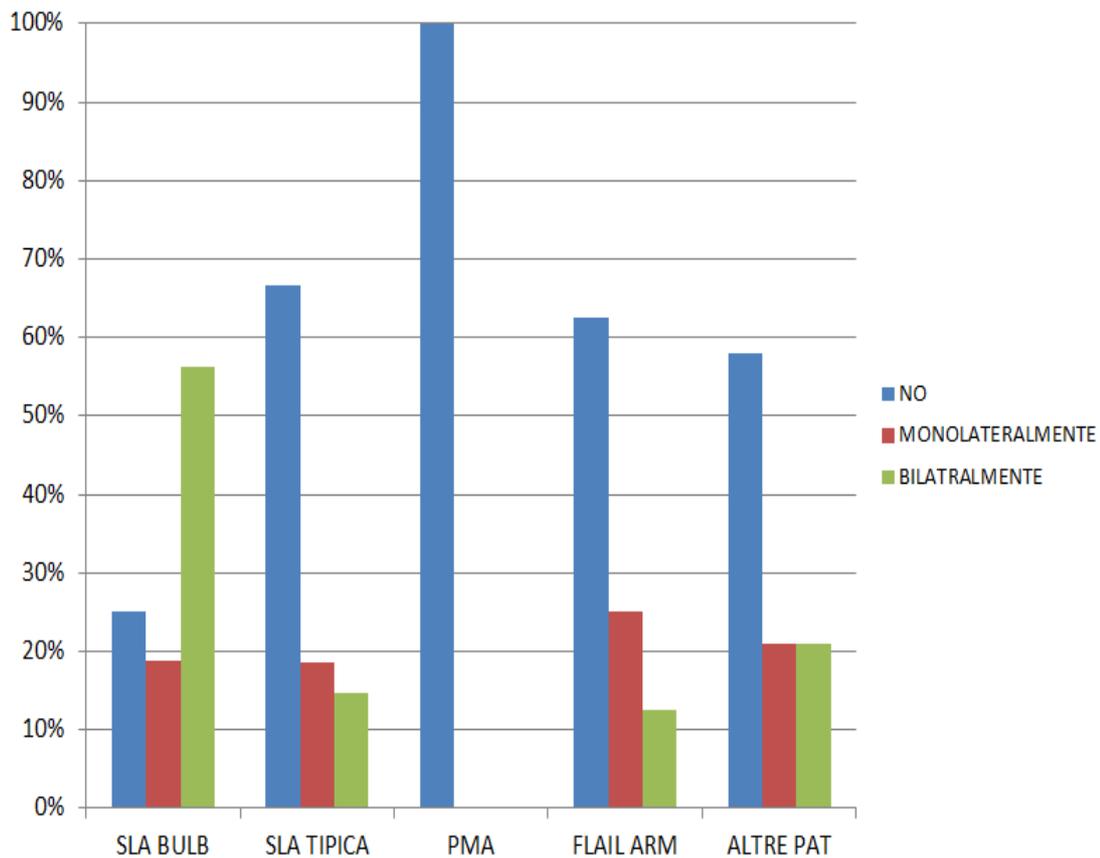
La valutazione di tale parametro risulta statisticamente più debole rispetto alla valutazione del TCMC per una maggiore variabilità interindividuale già presente nei controlli (valore di chi quadrato vicinissimo alla significatività: $p=0.06$), ma se confrontiamo le percentuali di alterazione bilaterali registrate tra TCMC ed amplitude ratio ci rendiamo conto che in entrambi i parametri la percentuale di alterazione è pari al 75% nel gruppo SLA bulbari e sicuramente meno forte negli altri gruppi.

Tabella L: Alterazioni Rapporto d'amp. stim.Corticale/Periferico

GRUPPO	RAPP Cort/Perif. alterato			Tot.
	NO	MONOLATERALMENTE	BILATRALMENTE	
SLA BULB	4	3	9	16
	25,00%	18,75%	56,25%	
SLA TIPICA	18	5	4	27
	66,67%	18,52%	14,81%	
PMA	4	0	0	4
	100,00%	0,00%	0,00%	
FLAIL ARM	5	2	1	8
	62,50%	25,00%	12,50%	
Altre Pat.	11	4	4	19
	57,89%	21,05%	21,05%	
Tutti	42	14	18	74

La distribuzione è vicinissima alla significatività ($p=0.06$)

La rappresentazione grafica illustra il dato ottenuto:



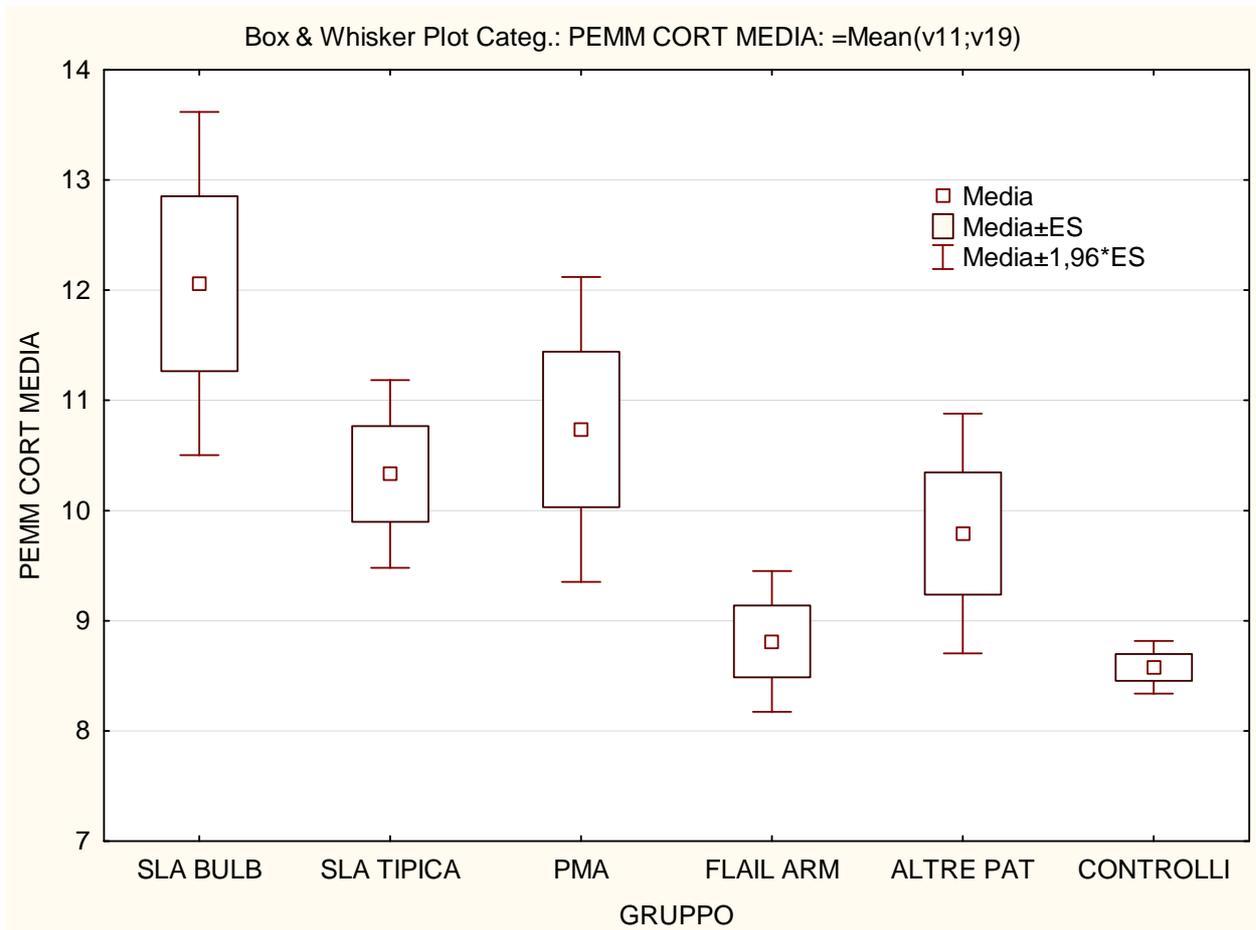
Alterazioni del rapporto d'Amp. Stim. Cort./Periferico

5.6 Rappresentazione grafica dei Limiti di confidenza per le varie misure nei gruppi in esame.

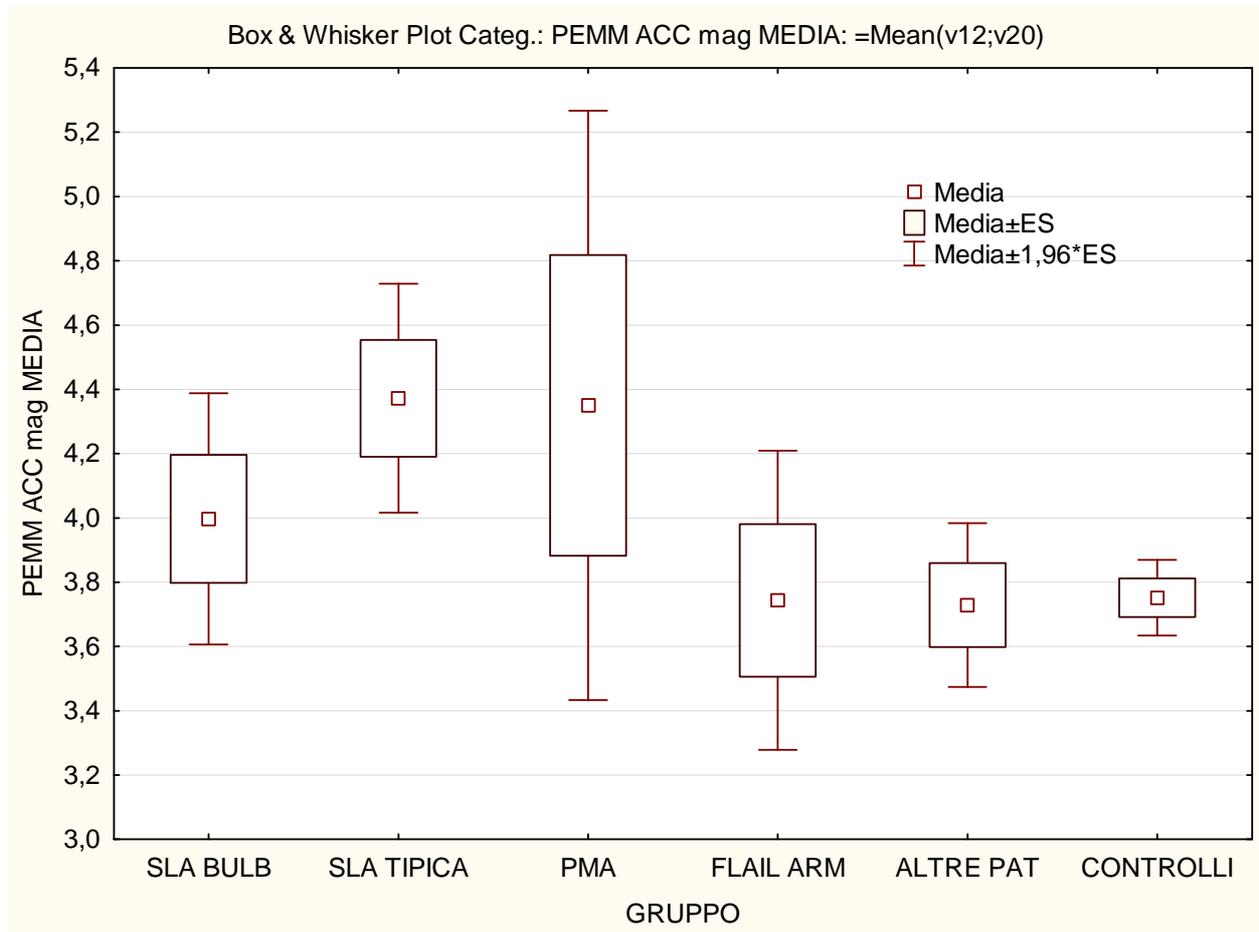
Utile ci è sembrato proporre anche graficamente le medie (fra destra e sinistra) ed i limiti di confidenza al 95% considerati per le varie misure, nei vari gruppi.

Si notino gli stretti limiti di confidenza del gruppo CONTROLLI con valori tutti vicinissimi alla media .

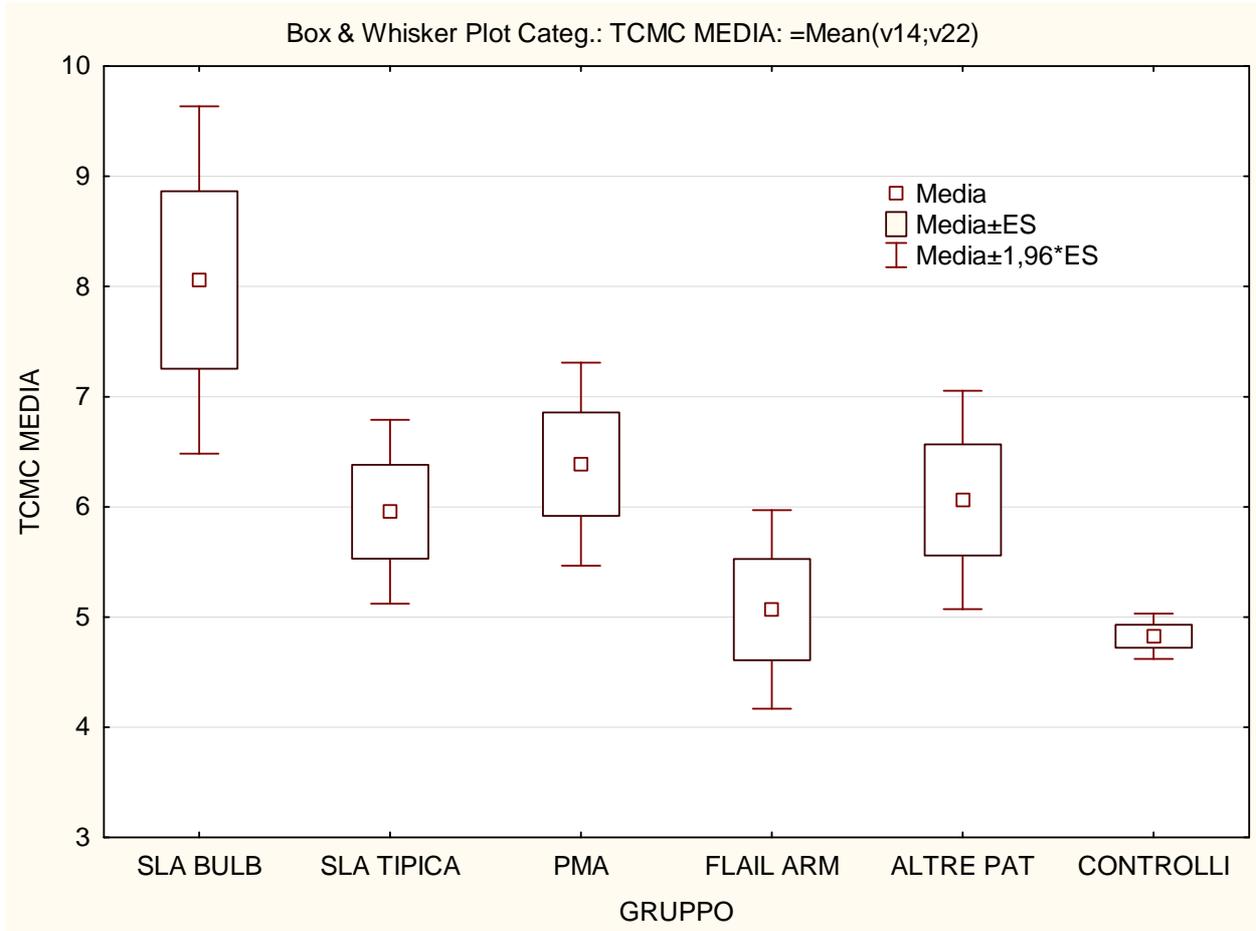
Nel PEMM CORTICALE:



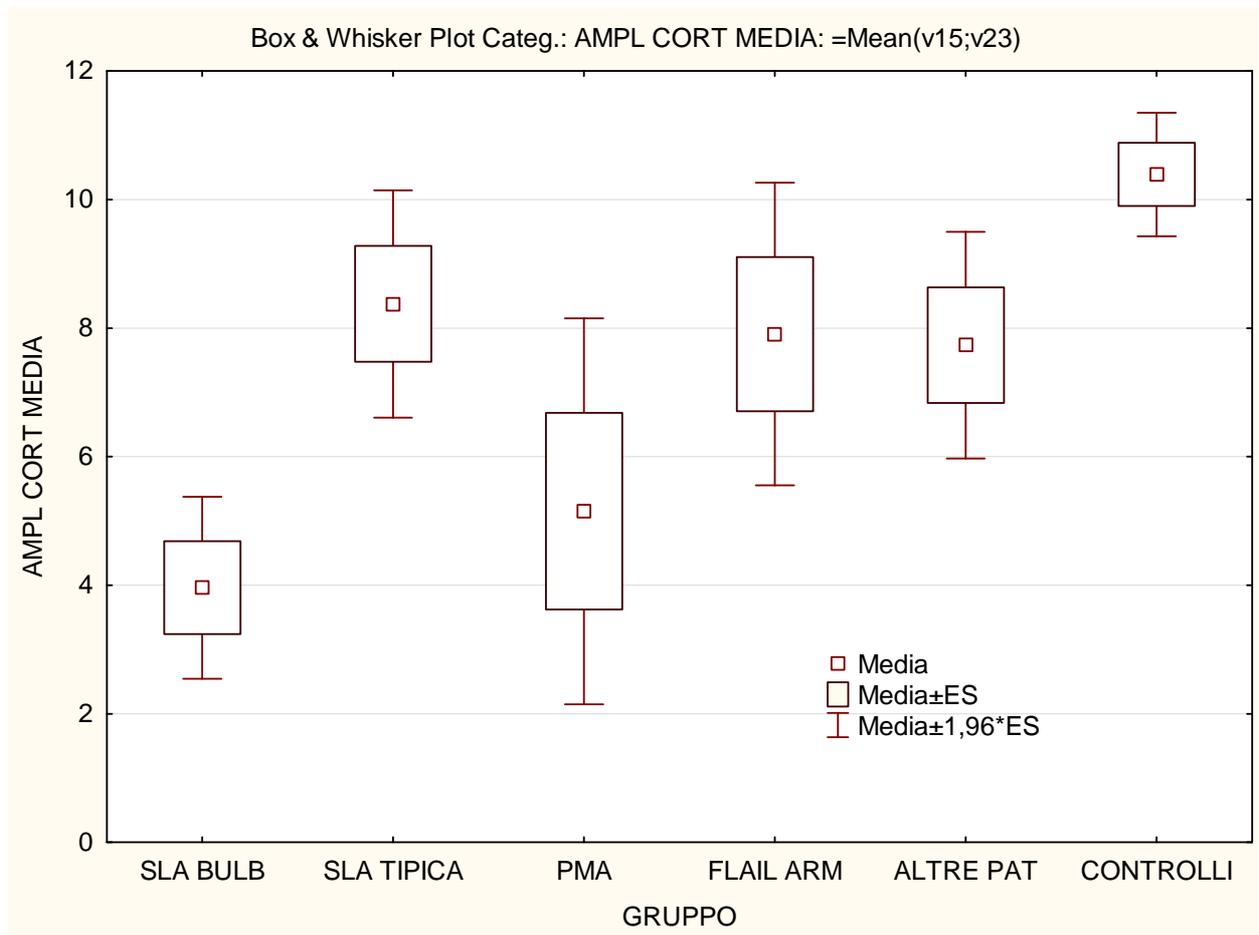
Nel PEMM Periferico stim. magnetico:



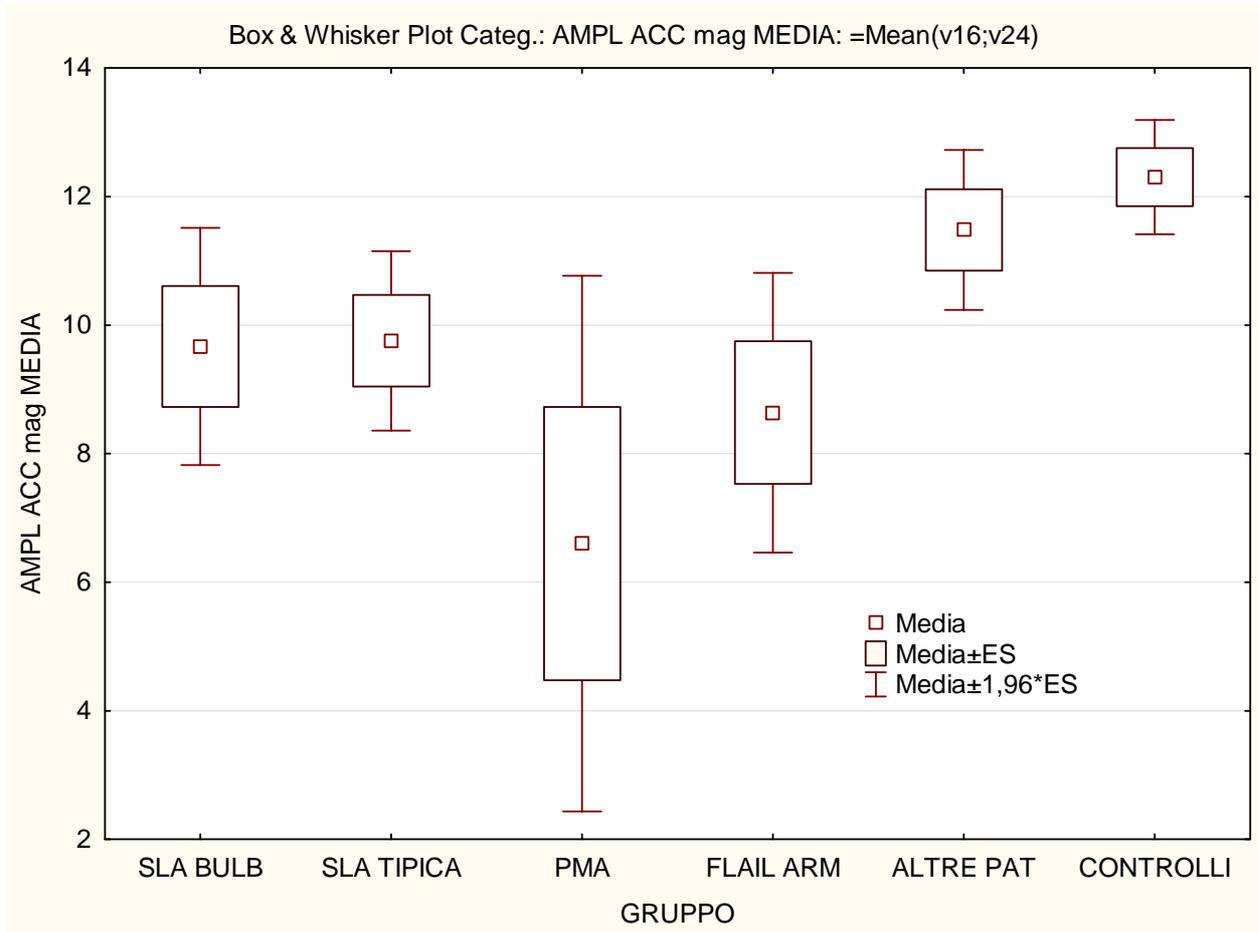
Nel TCMC :



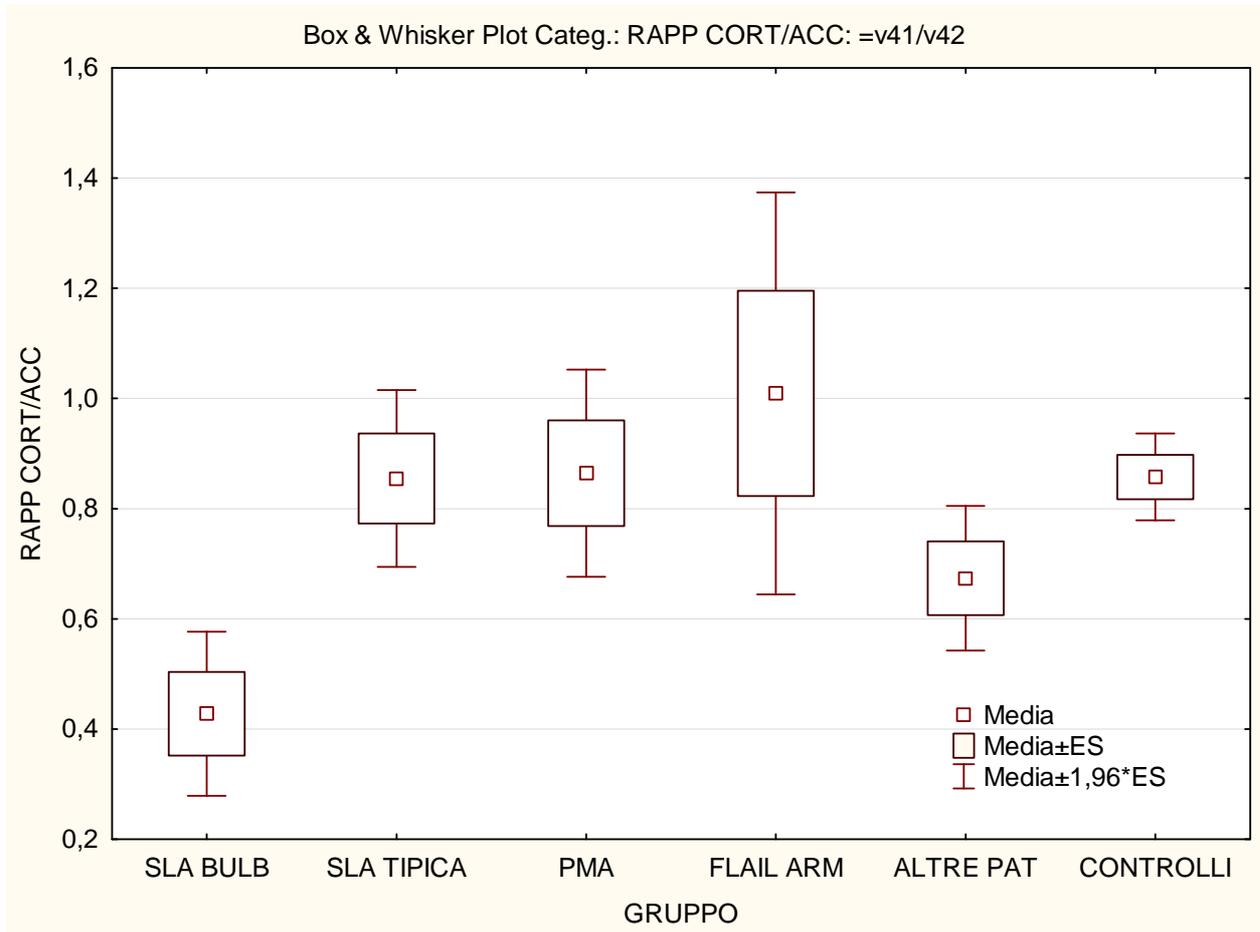
Nell' Ampiezza Corticale Media:



Nell' Ampiezza del PEM Periferico:



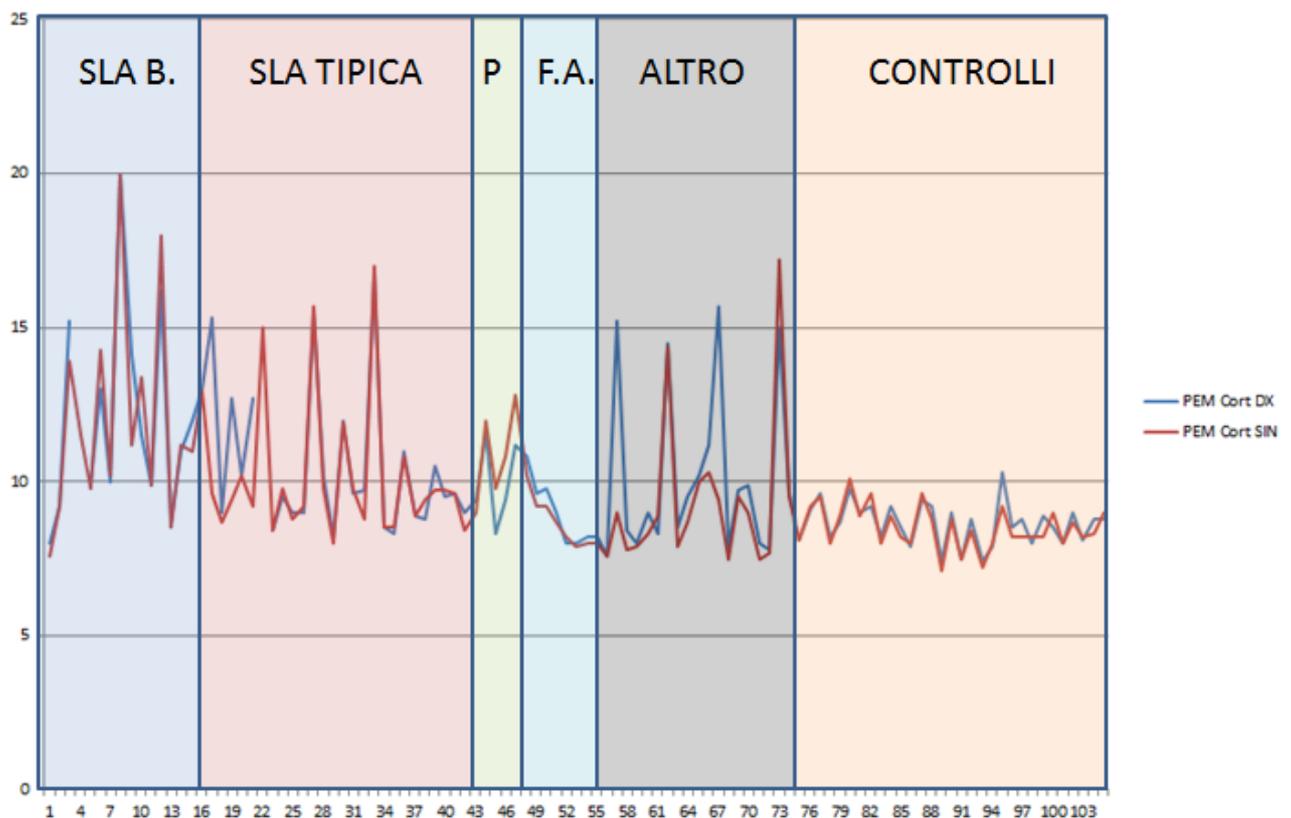
Nel Rapporto Ampiezza Corticale/Periferico (cd. amplitude ratio):



I seguenti grafici mostrano poi per ogni gruppo e per ogni variabile, l'andamento a destra ed a sinistra.

Notare come nei controlli, destra e sinistra, siano praticamente uguali per ciascuna variabile (come deve essere in soggetti sani) mentre per gli altri gruppi esistono ampie variazioni.

PEM Corticale:

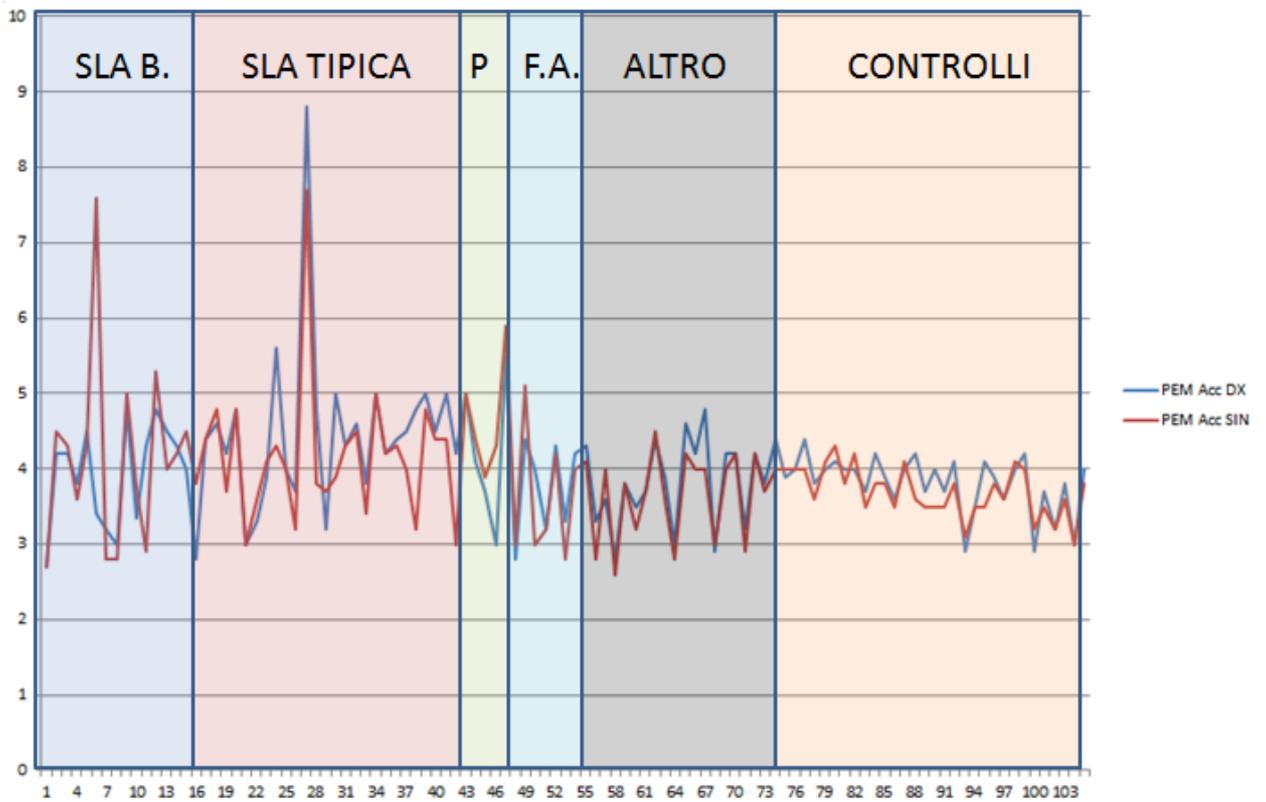


Notare: SLA BULBARE: valori alti sia a DX che a SIN

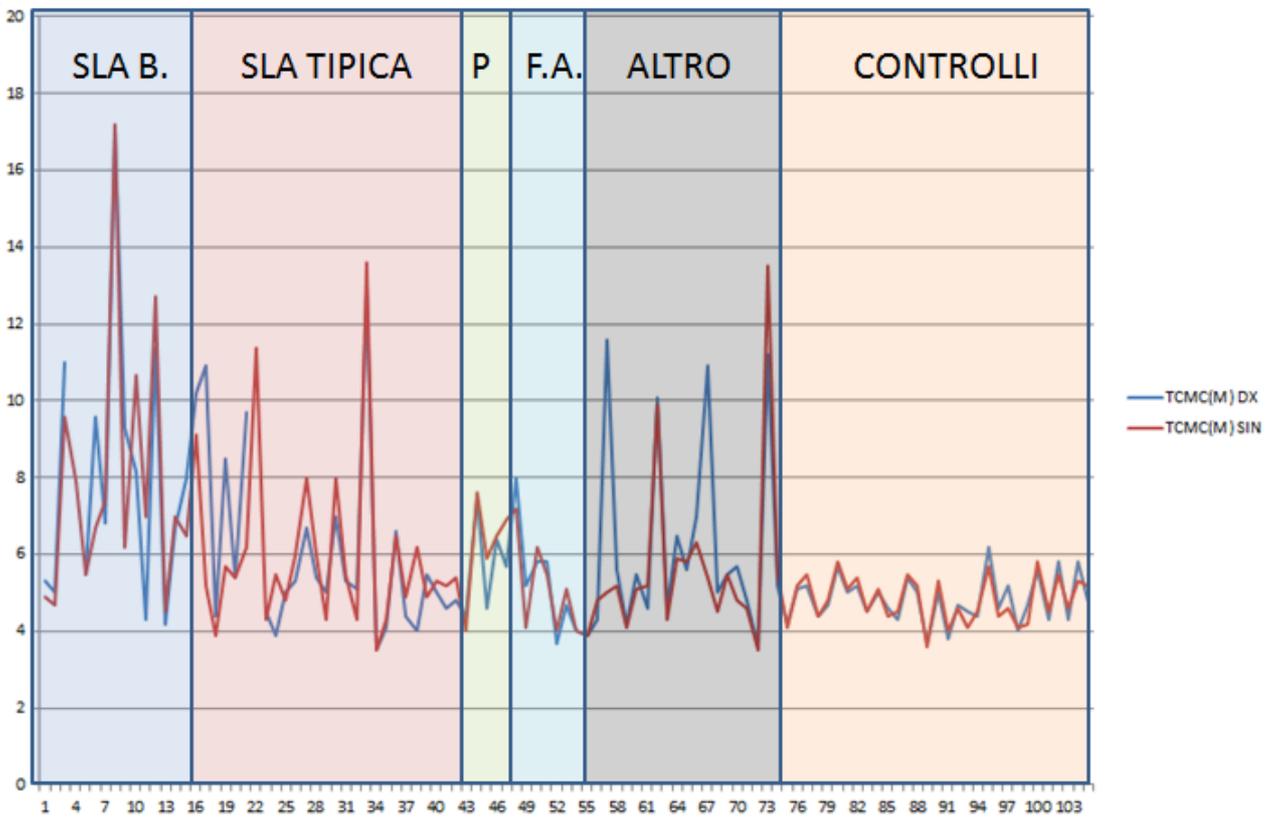
PMA e FLAIL ARM: come controlli

ALTRO: Valori molto discrepanti fra destra e sinistra

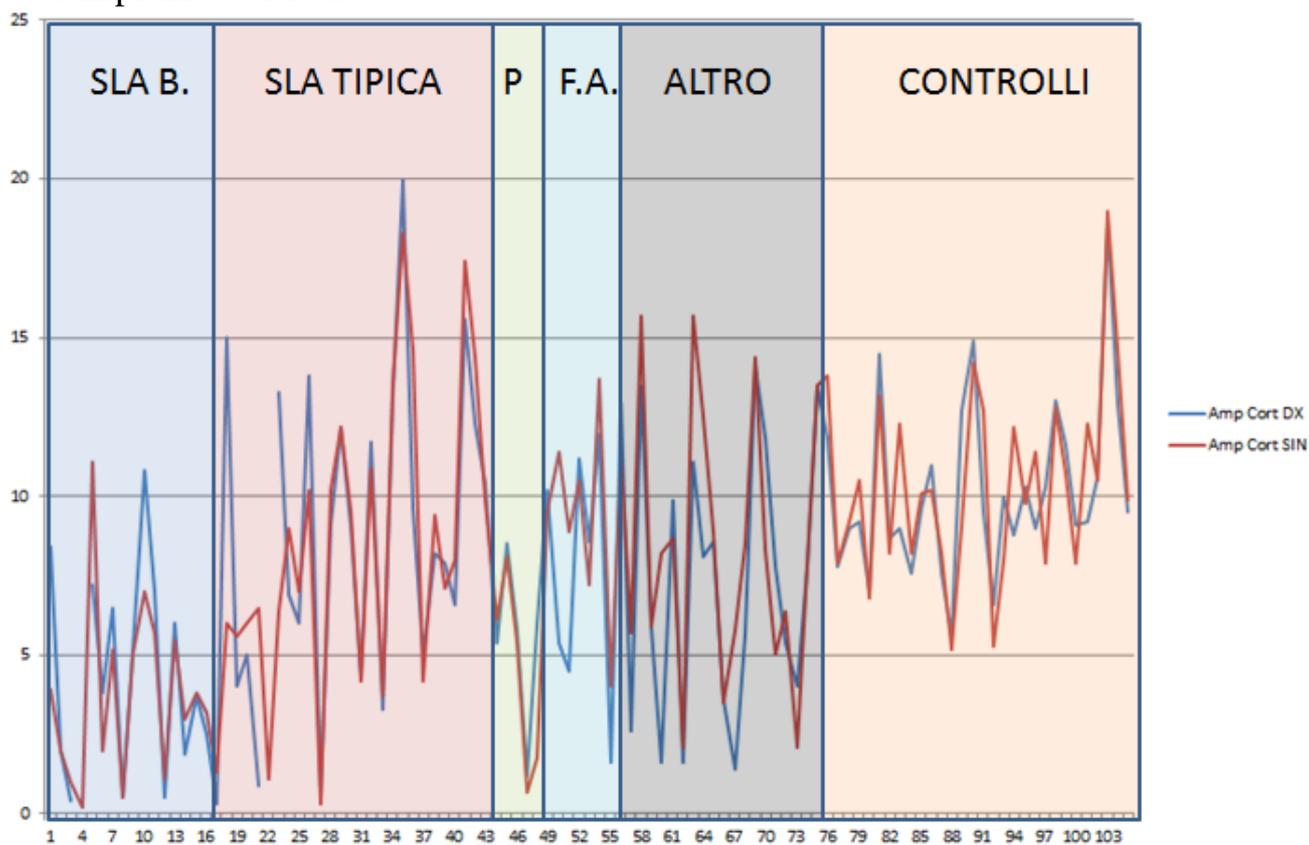
PEM Periferico:



TCMC diretto :



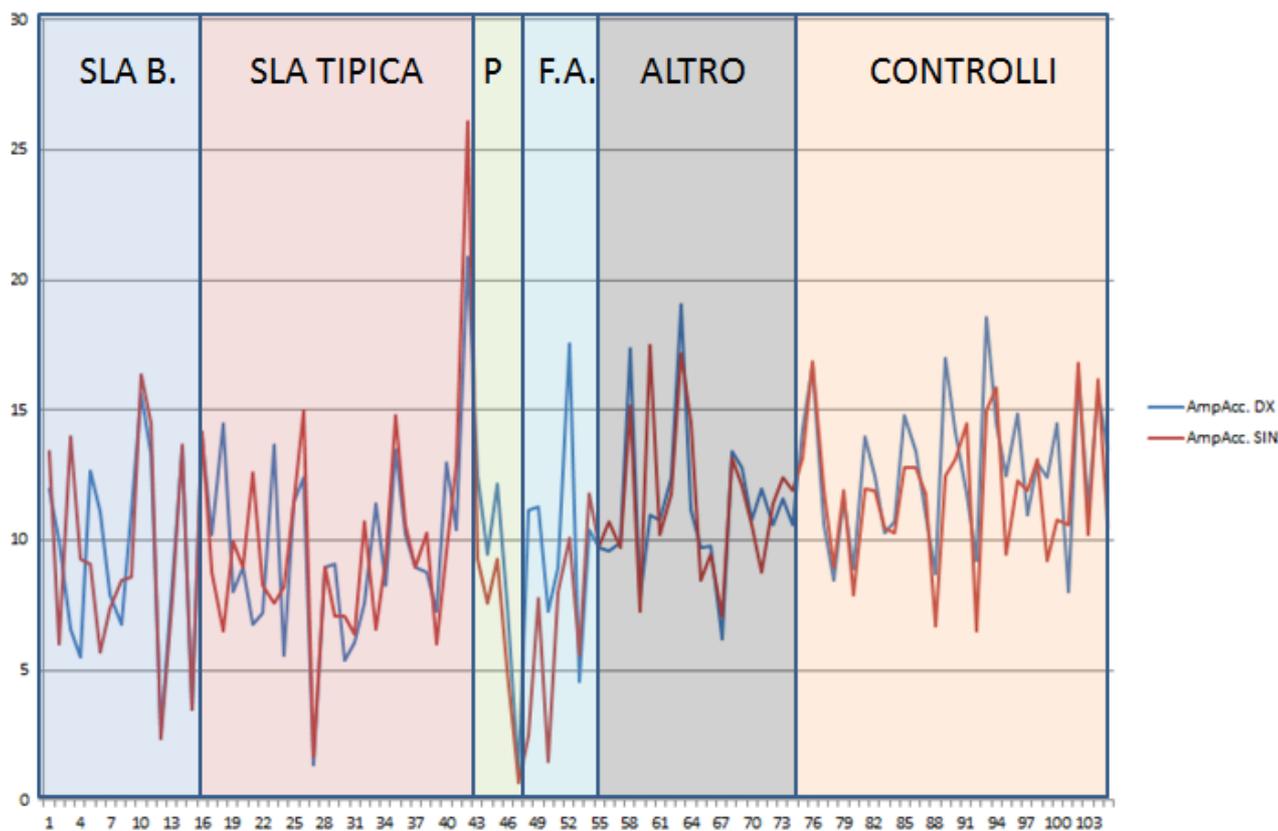
Ampiezza Corticale :



Con le Ampiezze, notare come la variabilità fra individui sia molto più elevata che con le velocità.

N.B.: Ampiezza corticale di SLA BULBARE molto più bassa dei controlli.

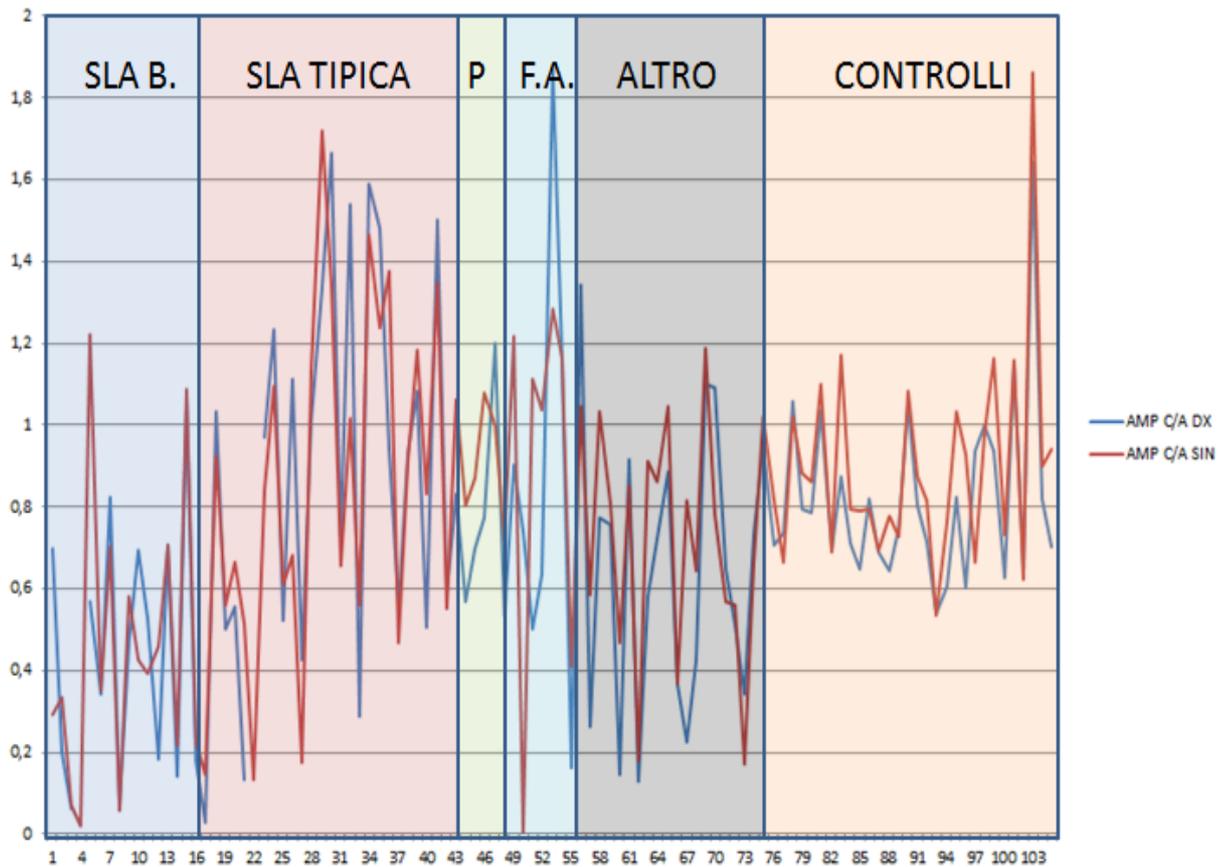
Ampiezza PEM Periferico :



N.B. : l'ampiezza del PEM Periferico nella SLA BULBARE è sì minore che nei controlli, ma assolutamente non significativo.

Al contrario di quanto succede con l'ampiezza corticale: questo spiega ovviamente perché il rapporto fra l'ampiezza del PEM Corticale e quella del PEM Periferico sia significativamente più bassa nella SLA bulbare.

Rapporto ampiezza PEM Cort/Perif. :



Ma vediamo anche nel gruppo SLA Bulbare quanti pazienti avevano manifestato alla valutazione neurologica segni di I° motoneurone nelle settimane immediatamente antecedenti l'esecuzione del PEMM.

La tabella ci riassume molto bene il quadro generale nei vari gruppi:

GRUPPO	Segni di I° bulbare alla v al. clinica		Totali - Riga
	NO	SI	
SLA BULB	5	11	16
	31,25%	68,75%	
SLA TIPICA	26	1	27
	96,30%	3,70%	
PMA	4	0	4
	100,00%	0,00%	
FLAIL ARM	8	0	8
	100,00%	0,00%	
ALTRE PAT	17	1	18
	94,44%	5,56%	
CONTROLLI	31	0	31
	100,00%	0,00%	
Tutti	91	13	104

Tabella M: Riscontro di segni di I° bulbare alla valutazione clinica

Pertanto quasi il 70% aveva segni di coinvolgimento di I° bulbare.

Sorge spontaneo chiedersi come si comportava allora la neurofisiologia nel gruppo SLA BULBARE rispetto ai segni di coinvolgimento del motoneurone superiore ?

Sul totale di 16 SLA bulbari, 11 (rappresentanti il 68,75%) avevano già mostrato clinicamente segni di interessamento di I° bulbare ed il PEM, considerando il solo parametro TCMC (unico dal punto di vista statistico pienamente significativo), appurava un coinvolgimento centrale in 12 pazienti (ossia nel 75% dell'intero gruppo).

Stessa valutazione utilizzando solo il parametro cd. amplitude ratio mostrava nello stesso gruppo anomalie in 12 pazienti (ossia nel 75%).

Se però, a tali parametri, veniva associato anche il confronto controlaterale, le asimmetrie così individuate aumentavano la

sensibilità diagnostica della metodica giungendo in 14 pazienti (ben l'87,5%) ad evidenziare deficit a carico del I° motoneurone.

Se infatti è vero che le ampiezze corticali del PEM rispetto al parametro TCMC hanno una grande variabilità interindividuale (come appurato anche nei nostri controlli, è tal'altra pur vero che il confronto di lato in uno stesso paziente ci fornisce elementi di confronto quanto mai attendibili.

Inoltre i restanti 2 pazienti negativi all'indagine PEM al tempo T0 venivano riconvocati per la ripetizione dell'esame strumentale in un tempo T1 rispettivamente 13 mesi (AA) e 24 mesi (BB) dopo il primo esame: i dati neurofisiologici ripetuti a distanza hanno evidenziato questa volta rispettivamente nel primo caso un aumento monolaterale del TCMC, e nell'altro paziente addirittura un TCMC pressochè raddoppiato bilateralmente (a testimoniare il coinvolgimento superiore) con anche riduzione in ampiezza in tutte le risposte motorie registrate sia corticali che periferiche (tipicamente da coinvolgimento anche del II°).

(AA)

<u>DX</u>	PEM Cort.	PEM Perif	PEM Acc E	TCMC(M)	Amp Cort	Amp Perif	Amp acc.E
T0	10,00	4,50	N.V.	5,50	7,20	12,70	N.V.
T1	11,8	4,90	3,30	6,90	5,80	6,90	6,60
<u>SX</u>	PEM Cort	PEM Perif	PEM Acc E	TCMC(M)	Amp Cort	Amp Perif	Amp acc E
T0	9,80	4,30		5,50	11,10	9,10	
T1	9,40	3,60	3,00	5,80	10,00	10,10	10,90

(BB)

<u>DX</u>	PEM Cort.	PEM Perif	PEM Acc E	TCMC(M)	Amp Cort	Amp Perif	Amp acc.E
T0	8,70	4,50	3,50	4,20	6,00	8,50	8,70
T1	14,50	6,40	4,40	8,10	2,10	3,50	4,30
<u>SX</u>	PEM Cort	PEM Perif	PEM Acc E	TCMC(M)	Amp Cort	Amp Perif	Amp acc E
T0	8,50	4,00	3,60	4,50	5,50	7,80	8,00
T1	14,10	5,70	4,20	8,40	1,70	2,90	2,70

6 DISCUSSIONE

Intento precipuo del nostro studio è stato quello di investigare specificamente le forme bulbari con coinvolgimento di I° motoneurone cioè quelle forme in genere più difficilmente obiettivabili durante la valutazione clinica (il riflesso masseterino infatti non sempre risulta ben elicetabile o per deficit del II° motoneurone o, a volte, perché nelle fasi iniziali di malattia può risultare ancora poco significativo).

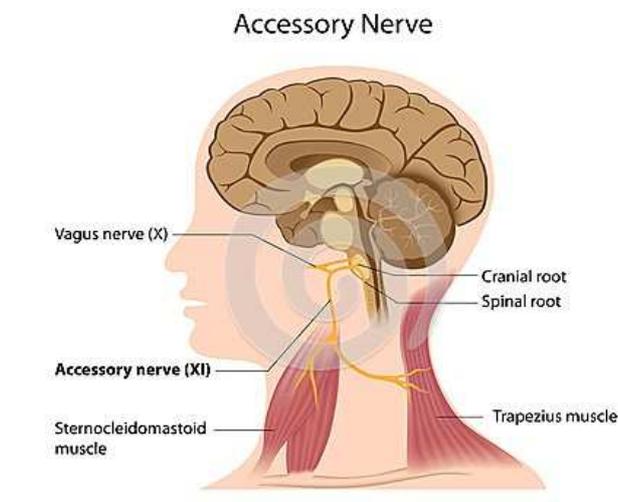
La scelta di derivare il PEM dal muscolo trapezio capo superiore è stata effettuata dopo una verifica anche di altri muscoli target ampiamente descritti in letteratura; difatti nella disamina dall'area craniale si è soliti presso molti laboratori, sia italiani che esteri, utilizzare il muscolo genioglosso od anche il massetere, ma abbiamo riscontrato maggiori difficoltà di riproducibilità nonché di riconoscimento e valutazione delle risposte evocate .

Abbiamo verificato anche la possibile derivazione dal muscolo sterno-cleido-mastoideo (sempre innervato dal n. accessorio spinale) con dati di latenza e TCMC risultati pienamente sovrapponibili a quelli del m. trapezio, fatta eccezione per una molto minore ampiezza di tutte le risposte ottenute, elemento per cui la scelta è ricaduta proprio sul muscolo trapezio c.s., già investigato, tra l'altro, in due studi presenti in letteratura (**A.Truffert et al.*,2000; Joong-Yang Cho et al.** , 2006**).

Questi studi hanno utilizzato per la registrazione dei PEM dall'area bulbare il muscolo trapezio capo superiore con metodologia rigorosa ottenendo risultati incoraggianti relativamente ad una maggiore

sensibilità diagnostica e minori difficoltà di registrazione, anche se condotti solo su un limitato numero di pazienti con SLA (10 in un caso* e 17 in un altro**) e senza valutare la maggiore o minore sensibilità della metodica rispetto al sottotipo clinico di SLA in esame. Inoltre entrambi gli studi hanno introdotto, a nostro avviso, alcuni bias:

- Hanno impiegato e confrontato risposte ottenute con stimoli diversi (magnetico per la stimolazione corticale ed elettrico per quella del n. accessorio spinale), metodologicamente meno affidabile;
- Hanno impiegato anche un differente metodo di calcolo per il TCMC (metodo indiretto) non quantificando, in tal modo, un reale Tempo di conduzione motoria centrale stimolando il n. accessorio spinale in una sede distale (retromastoidea) rispetto all'emergenza delle fibre del II° motoneurone (Figura)



Inoltre solo nel primo studio (A.Truffert et al.*) si attribuiva importanza diagnostica con espliciti valori di cut off al rapporto d'ampiezza tra stimolazione magnetica corticale e stimolazione elettrica periferica, poi non considerata nel successivo studio per il riscontro di variazioni interindividuali troppo ampie (**Joong-Yang Cho et al.**).

6. CONCLUSIONI

I risultati acquisiti da questa nostra sperimentazione in un gruppo di pazienti affetti dalla SLA –sottotipo clinico PBP, in confronto anche con studi presenti in letteratura (**A.Truffert et al., 2000; Joong-Yang Cho et al., 2006;**), ci consentono di affermare che la TMS è un'indagine altamente sensibile (75% e fino all'87,5% nella nostra casistica) nel rilevare un coinvolgimento, potenzialmente anche subclinico, del fascio cortico-bulbare derivando i PEM dal muscolo trapezio capo superiore e servendosi del metodo diretto, più preciso nella misurazione del reale TCMC .

Resta centrale la valutazione concomitante del rapporto d'ampiezza PEM corticale/PEM periferico associato al confronto controlaterale nello stesso soggetto indagato, parametro grazie al quale abbiamo registrato, nella nostra osservazione, un incremento diagnostico del 12,5% rispetto alla sola valutazione del TCMC.

I diversi patterns di alterazione del TCMC riscontrabili sono verosimilmente riconducibili a diversi gradi di perdita dei motoneuroni corticali.

In una fase iniziale, la perdita dei motoneuroni corticali può comportare una minima desincronizzazione della volée discendente lungo il fascio cortico-bulbare che diventa meno efficiente nell'elicitare le cellule del secondo motoneurone. Questo si può tradurre in un modesto rallentamento della conduzione cortico-spinale associato ad un lieve innalzamento della soglia di attivazione corticale anche potenzialmente quantificabile ai PEM .

Con l'ulteriore perdita delle fibre cortico-bulbari, similmente a quanto avviene per la via cortico-spinale, si instaura un incremento progressivo della soglia di eccitabilità corticale che, generalmente in breve tempo, può evolvere verso una impossibilità di riuscire a stimolare la corteccia motoria primaria in condizioni anche di facilitazione muscolare.

In conclusione bisogna anche evidenziare che i PEM rappresentano al momento l'unica metodica di indagine capace all'occorrenza sia di confermare semplicemente un sospetto clinico che di registrare autonomamente anche anomalie subcliniche a carico del tratto cortico-bulbare.

Il tutto per giungere, in una patologia devastante come la SLA, ad una diagnosi precoce e con la maggiore certezza diagnostica possibile. Ciò consentirebbe almeno l'inserimento di questi pazienti in trials clinico-terapeutici in uno stadio meno avanzato di malattia, nella speranza di poterne rallentare il più possibile la progressione .

BIBLIOGRAFIA

1. Al-Chalabi A, Andersen PM, Nilsson P, Chioza B, Andersson JL, Russ C, Shaw CE, Powel JF, Leigh PN: Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 157-164;
2. Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, Hardiman O, Kollewe K, Leigh PN, Pradat PF, Silani V, Tomik B: EFNS task force on management of amyotrophic lateral sclerosis: guidelines for diagnosing and clinical care of patients and relatives. *Eur J Neurol* 2005; 12: 921-938;
3. Andersen PM: Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxyde dismutase gene. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2006; 6: 37-46;
4. Angelini C: Sclerosi laterale amiotrofica. In: *Le malattie neuromuscolari*. Piccin Ed, Padova, 1994, pp 361-382;
5. Armon C: Environmental risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology* 2001; 20: 2-6;
6. Attarian S, Verschueren A, Pouget J; (2007) – Magnetic stimulation including the triple-stimulation technique in ALS; *Muscle and Nerve*; 36 (1):55-61;

7. Attarian S, Pouget J, Schmied A. (2006)- Covariation of corticospinal efficiency and silent period in motoneuron diseases; *Muscle and Nerve*;34(2):178-188;
8. Barker AT, Freeston IL, Jalinous R, Jarrat JA (1987)-Magnetic stimulation of the human brain and peripheral nervous system: an introduction and the results of an initial clinical evaluation. *Neurosurgery* 20:100-109;
9. Bendotti C.(2004)–Geografia molecolare e cellulare della degenerazione del motoneurone- *Neurol Sci* 25:S613-S617;
10. Berardelli A et al., (1991) Electrical and magnetical stimulation in patients with corticospinal damage due to stroke or motor neuron disease- *Electroencephal Clin Neurophys*81:389-396;
11. Berardelli A, Inghilleri M, Formisano R, Accornero N, Manfredi M (1987a) -Stimulation of motor tracts in motoneuron disease. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 50: 732-737;
12. Boe SG, Stashuk DW, Doherty TJ (2007)- Motor unit number estimates and quantitative motor unit analysis subjects and patients with ALS; *Muscle and Nerve*;36:62-70;
13. Booth K.R., Streletz L.J. Raab V.E., Kerrigan J.J, Alaimo M.A. and Herbison G.J.;(1991)- Motor evoked potentials and central motor conduction: studies of transcranial magnetic stimulation with recording from the leg; *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*,1991;

14. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL: El Escorial revisited: Revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Mot Neuron Disord* 2000; 1: 293-299;
15. Caponnetto C., Gliglione E, Reni L. (2004) Tecniche neurofisiologiche per lo studio dell'unità motoria nella sclerosi laterale amiotrofica; *Neurol Sci* 25:S65-S67;
16. Caramia MD et al., (1991) Excitability changes of muscular responses to magnetic brain stimulation in patients with central motor disorders- *Electroencephal Clin Neurophys* 81:243-250;
17. Chang JY,(2004)- Brain stimulation for neurological and psychiatric disorders, current status and future direction; *J Pharmacol. Exp. Ther.*;309(1):1-7;
18. Chen R., Cros D., Curra A., Di Lazzaro V., et al., The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: Report of the IFCN committee – *Clinical Neurophysiology* 119 (2008) 504-532;
19. Claus D. (1990)- Central motor conduction: method and normal results- *Muscle and Nerve* 13:1125-1132;
20. Claus D.(1995)- Transcranial Magnetic Stimulation as a diagnostic and prognostic test in amyotrophic lateral sclerosis- *J Neurol. Sci.* :129(suppl.):30-34;

21. Couratier P, Truong CT, Khalil M, Deviere F, Vallat JM: Clinical features of flail arm syndrome. *Muscle Nerve* 2000; 23: 646-648;
22. Czaplinski A, Steck AJ, Andersen PM, Weber M: Flail arm syndrome: a clinical variant of amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol* 2004; 11: 567-568;
23. Dier and Chiappa KH;(1993)- Clinical application of MEPs. In advanced in Neurology. Electrical and magnetical stimulation of the brain and spinal cord- Raven Press; page182-185;
24. Di Lazzaro V. et al., (1999)-The diagnostic value of motor evoked potentials- *Clin. Neurophysiology* 110:1297-1307;
25. Eisen Andrew and Swash Michael (2001) –Clinical neurophysiology of ALS- *Clinical Neurophysiology* 112:2190-2201;
26. Eisen Andrew et al., (1990)- Cortical magnetic stimulation in ALS. *Muscle and Nerve* 13:146-151;
27. Eisen A, Weber M. (2001) – The motor cortex and ALS; *Muscle and Nerve*; 24:564-573;
28. Ertekin C, Turman B, Tarlaci S, et al., Cricopharyngeal sphincter muscle responses to transcranial magnetic stimulation in normal subject and in patients with dysphagia – *Clinical Neurophysiology*, 2001;

- 29.El Escorial World Federation of Neurology criteria for the diagnosis of ALS-(1994) Subcommittee on motor neuron disease/ALS of the World Federation of Neurology Research Group on Neuromuscular Disease and the El Escorial “Clinical limits of ALS” workshop contributors; *J Neurol. Sci*;124(suppl.):96-107;
- 30.Floyd A G, BA, QP Yu, PhD, et al., Transcranial magnetic stimulation in ALS – *Neurology* 2009 February 10;
- 31.Gordon PH, Miller RG, Moore DH: *ALSFRS-R. Amyotroph Later Scler Other Motor Neuron Disord* 2004; 5: 90-93
- 32.S.Groppa a, A. Oliviero b, A. Eisen c, A. Quartarone d, L.G. Cohen e, V. Mall f, A. Kaelin-Lang g, T. Mimah,S. Rossi i, G.W. Thickbroom j, P.M. Rossini k, U. Ziemann l, J. Valls-Solém, H.R. Siebner n, - A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee - *Clinical Neurophysiology* 2012 .
- 33.Hess CW, Mills KR Murray NMF (1986) Magnetic stimulation of the human brain: effects of voluntary muscle activity. *J Physiol (Lond)* 378:379;
- 34.Hirano A, Donnenfeld H, Sasaki S, Nakano I: Fine structural observations of neurofilamentous changes in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1984; 43: 461-470

35. Inghilleri M., Iacovelli E., Clinical neurophysiology in ALS- Archives Italiennes de Biologie, 149:57-63, 2011;
36. Joong-Yang Cho et al.**, “Clinical utility of trapezius muscle studies in the evaluation of ALS” - Journal of Clinical Neuroscience 2006;
37. Lewis P, Rowland MD, Shneider MD: Amyotrophic lateral sclerosis: *N Engl J Med* 2001; 344: 1688-1700;
38. Masahiro Sonoo, MD, Satoshi Kuwabara, MD et al. – Utility of trapezius EMG for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis – Muscle & Nerve, January 2009;
39. Mike A. Singer, MD, PhD, Jeffrey M. Statland, MD, Gil I. Wolfe, MD and Richard J. Barohn, MD (2007)-Primary Lateral Sclerosis- Muscle and Nerve 35:291-302;
40. Mills KR, Murray NMF, Hess MFH (1987) Magnetic and electrical transcranial brain stimulation. Physiological mechanisms and clinical applications. *Neurosurgery* 20:164-168;
41. Mills K. et al., (1998)- Peripheral and central motor conduction in ALS- *J Neurol. Sci.* 159:82-87;
42. Mills K.R., (2003)- The natural history of central motor abnormalities in ALS; *Brain*:126:2558-2566;

43. Miscio G. et al.,(1999)- Motor neuron disease: usefulness of transcranial magnetic stimulation in improving the diagnosis. *Clin.Neurophysiology*;110:975-981;
44. Noto YI, Misawa S, Kanai K et al. – Awaji ALS criteria increase the diagnostic sensitivity in patients with bulbar onset.- *Clinical Neurophysiology*, 2011 Jul 14;
45. Pringle CE, Hudson AJ, Munoz DG, Kiernan JA, Brown WF, Ebers GC: Primary lateral sclerosis. Clinical features, neuropathology and diagnostic criteria. *Brain* 1992; 115: 495-520;
46. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al.: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62;
47. Rossini P., Barker A, Berardelli A, et al.,(1994) – Non invasive electrical and magnetic stimulation of the brain. Spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of IFCN committee- *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 91: 79-92;
48. Schulte-Mattler WJ, Muller T, Zierz S, (1999) Transcranial magnetic stimulation compared with with upper motor neuron signs in patients with ALS; *J Neurol. Sci.*;170:51-56;
49. Singer MA, Statland JM, Wolfe GI, Barohn RJ: Primary lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2007; 35: 291-302;

50. Stalberg E. (1991)-Invited review: electrodiagnostic assessment and monitoring of motor unit changes in disease; *Muscle and Nerve* 14:293-303;
51. Talbot K: Motor neurone disease. *Postgrad Med J* 2002; 78: 513-519;
52. Terao Y., Ugawa K, et al., (1994)- Transcranial stimulation of the leg area of the motor cortex in humans; *Acta Neurol. Scand.*;1994;
53. Triggs WJ, Menkes D, Onorato J, et al., (1999)- Transcranial magnetic stimulation identifies upper motor neuron involvement in motor neuron disease; *Neurology* 53: 605-611;
46. A. Truffert et al.*, “ALS versus CSM: a study using TMS with recordings from the trapezius and limb muscles”-*Clinical Neurophysiology* 2000;
54. Zanette et al., (2002) – Different mechanisms contribute to motor cortex hyperexcitability in ALS; *Clinical Neurophysiology* 113; 1688-1697;
55. Ziemann U., Eisen A, (2004)- TMS for ALS: why and why not; *Clinical Neurophysiology* 115;:1237-1238;

INDICE

Abstract.....	p. 1
Riassunto.....	p. 3
6. INTRODUZIONE ALLA SLA	
1.1 Generalità	p. 5
1.2 Eziopatogenesi e fattori di rischio	p. 13
1.3 Dati epidemiologici	p. 15
1.4 Clinica e suddivisione in sottotipi clinici	p. 16
1.5 Diagnosi e criteri diagnostici	p. 21
7. TECNICHE DI INDAGINE NEUROFISIOLOGICHE	
2.1 Lo studio del II motoneurone: l'EMG	p. 26
2.2 Lo studio del I motoneurone: i PEM.....	p. 33
e) Basi Tecniche	p. 33
f) Cenni Storici	p. 35
g) Metodologia	p. 38
h) I PEM nella SLA.....	p. 43

8. OBIETTIVI DELLO STUDIO	p. 50
9. MATERIALE E METODI	
d) Strumentazione e tecniche utilizzate	p. 53
e) Popolazione in studio	p. 55
f) Suddivisione del campione in sottotipi Classificazione secondo El Escorial	p. 56
10. RISULTATI	p. 59
5.5 Dati Normativi.....	p. 59
5.6 Gruppo SLA bulbare.....	p. 61
5.7 Gruppo SLA tipica.....	p. 63
5.8 Analisi del TCMC.....	p. 65
5.5 Rapporto Ampiezza Stim.Corticale/Perif....	p. 68
5.6 Rappresentazione dei Limiti di confidenza..	p. 70
6. DISCUSSIONE	p. 83
7. CONCLUSIONI	p. 86
BIBLIOGRAFIA	p. 88

