



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Neuroscienze

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

PLASTICITÀ CORTICALE NELLA SCLEROSI MULTIPLA
ALL'ESORDIO CLINICO: STUDIO DELL'OSSERVAZIONE
DELL'AZIONE CON RISONANZA MAGNETICA
FUNZIONALE

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. SILVANO TODESCO

Supervisore : Ch.mo Prof. LEONTINO BATTISTIN

Dottoranda : Dott.ssa PAOLA GROSSI

DATA CONSEGNA TESI
31 gennaio 2008

INDICE

1 La sclerosi multipla	9
1.1 Eziopatogenesi	9
1.2 Epidemiologia	9
1.3 Clinica	12
1.4 Disturbi cognitivi nella sclerosi multipla	14
1.5 Assessment neuropsicologico	15
1.6 Deficit cognitivi e neuroimaging	17
1.7 Decorso e prognosi.....	21
1.8 La diagnosi di sclerosi multipla	24
<i>L'esame del liquido cerebrospinale</i>	31
1.9 Terapia	32
2 La risonanza magnetica funzionale nello studio della SM.....	35
2.1 La risonanza magnetica funzionale.....	36
2.2 La riorganizzazione corticale in pazienti con SM attraverso l'fMRI.....	40
3 Il Sistema di Osservazione dell'Azione	51
3.1 Il Sistema di Osservazione dell'Azione nei primati non umani.....	52
<i>Le proprietà visive dei neuroni di STS</i>	53
<i>Le proprietà visuo-motorie dei neuroni di F5 e di PF</i>	55
<i>Il ruolo di aree motorie e somatosensoriali nell'osservazione dell'azione</i>	57
3.2 Il Sistema di Osservazione dell'Azione nell'uomo.....	58
<i>Localizzazione delle aree coinvolte nell'osservazione dell'azione</i>	59
<i>Altre aree coinvolte nell'osservazione dell'azione</i>	62
3.3 Sommario	63
4 Plasticità corticale nella sclerosi multipla all'esordio clinico: studio dell'osservazione dell'azione con risonanza magnetica funzionale.....	64
4.1 Materiali e metodi	66
<i>Pazienti (gruppo sperimentale)</i>	66
<i>Volontari sani (Gruppo di controllo)</i>	69
<i>Valutazione neuropsicologica</i>	69
<i>Caratteristiche degli stimoli e disegno sperimentale</i>	71
4.2 Risultati	75
<i>Risultati di MRI morfologica</i>	75
<i>Risultati fMRI</i>	77
4.3 Discussione	80
BIBLIOGRAFIA.....	85

Plasticità corticale nella sclerosi multipla all'esordio clinico: studio dell'“osservazione dell'azione” con risonanza magnetica funzionale

ABSTRACT

Obiettivi: Studi di risonanza magnetica funzionale (fMRI) effettuati in pazienti con sclerosi multipla (MS) hanno riscontrato, durante l'esecuzione di compiti motori, un aumento nel reclutamento di alcune aree site nel circuito fronto-parietale, solitamente associate ad azioni di afferramento e manipolazione di oggetti. Inoltre, studi di *brain imaging* in individui sani hanno descritto come alcune aree fronto-parietali, coinvolte durante l'esecuzione di azioni svolte con la mano, sono “attivate” anche in fase di osservazione dell'azione.

Materiali e Metodi: Sono stati reclutati 12 pazienti destrimani affetti da sclerosi multipla relapsing-remitting (SMRR) e 15 volontari sani, destrimani, di simile età.

Le immagini di risonanza magnetica strutturale (MRI) e di fMRI sono state acquisite mediante uno scanner a 1.5T (Philips, Achieva). utilizzando una sequenza *single shot* eco-planare pesata in T2* al fine di misurare il segnale BOLD (blood oxygenation level-dependent) dell'intero encefalo (32 fette assiali con spessore 3.5mm e 0.5 mm gap, matrice 64x64, FOV = 224 x 224 mm², flip angle = 90° TR = 3 sec, TE = 50 msec). Durante l'acquisizione delle immagini funzionali i partecipanti dovevano osservare delle foto raffiguranti una mano umana che afferra un oggetto (condizione di grasping) o una mano aperta posta di fianco ad un oggetto (condizione di controllo). Le due condizioni sperimentali sono state presentate con disegni a blocchi, ciascuno della durata di 15 secondi. I volumi funzionali sono stati 'pre-processati' (riallineamento spaziale, normalizzazione e smoothing) e analizzati utilizzando il software SPM5.

Risultati: I risultati del nostro studio indicano differenze statisticamente significative di attivazione, tra pazienti SM agli esordi e soggetti di controllo, in risposta all'osservazione di azioni di prensione eseguite con la mano nel giro precentrale, bilateralmente, e nel giro occipitale inferiore, bilateralmente. Durante la condizione di controllo (la mano posta di fianco all'oggetto), i pazienti hanno mostrato attivazione statisticamente significativa nel giro occipitale inferiore. La soglia statistica applicata ai contrasti di interesse era di $p < 0.001$ (non corretta). Sono stati considerati solamente i *clusters* che presentavano una dimensione maggiore di 20 voxels.

Conclusioni: I risultati suggeriscono che durante l'osservazione dell'azione eseguita con la mano nei pazienti con sclerosi multipla all'esordio si osserva un incremento nell'attivazione di alcune regioni della corteccia premitoria, note per essere coinvolte nell'osservazione dell'azione. Questi risultati sembrano indicare che il meccanismo di "over-activation" riscontrato per l'esecuzione di azioni di prensione in pazienti SM all'esordio possa essere esteso anche a situazioni di osservazione e di codifica del significato dell'azione.

Cortical plasticity in early onset multiple sclerosis: A fMRI study of action observation system

ABSTRACT

Objective: Functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies conducted on patients with multiple sclerosis (MS) indicated that execution of motor tasks determines an increased recruitment of some areas of the fronto-parietal circuit associated with grasping and manipulating objects. In addition, neuroimaging research on healthy humans disclosed that a number of fronto-parietal areas involved in hand action execution are also activated during hand action observation. We used fMRI to compare patterns of haemodynamic activity evoked by observation of grasping actions in early relapsing remitting MS (RRMS) patients and in normal controls.

Methods: 12 right-handed early RRMS patients have been recruited. Further, 15 sex- and age-matched right-handed healthy volunteers served as controls. Using a 1.5T scanner, functional images were obtained with a single shot echo-planar T2*-weighted sequence in order to measure blood oxygenation level-dependent contrast throughout the whole brain (32 axial slices, slice thickness 3.5 mm/0.5 mm gap, matrix 64 x 64 voxels, FOV = 224 x 224 mm², flip angle = 90°, TR = 3 s, TE = 50 ms). During scanning participants were requested to observe static images depicting a human hand either grasping an object (grasping condition) and resting alongside an object (control condition). Experimental conditions were presented in a block design with blocks' duration of 15 s. Functional volumes were pre-processed and analysed using the software SPM5 by realignment and by normalization to the standard space defined by the Montreal Neurological Institute (MNI) template. Lastly, volumes

were smoothed using an 8 mm isotropic Gaussian kernel. High-pass filtering was also applied.

Results: Ours results suggest that, among other areas, action observation (*grasping condition*) evoked an increased activation of both the precentral gyrus, bilaterally and the inferior occipital gyrus, bilaterally in MS patients as compared to controls. During the control condition (human hand resting alongside an object), compared to healthy volunteers, patients with MS had more significant activations of the left inferior occipital gyrus. The α level for these contrasts was set at $p < 0.001$ (uncorrected; extent threshold of at least 10 contiguous voxels).

Conclusions: These findings suggest that during hand action observation early RRMS patients show an increased activation in regions of the premotor cortex known to be involved in action observation. This may indicate that the ‘over-activation mechanism’ emerged in RRMS patients during action execution tasks may extend to action understanding situations.

1 La sclerosi multipla

La **Sclerosi Multipla** (SM) è attualmente considerata una malattia autoimmune, infiammatoria, cronica e demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC), la cui eziopatogenesi è ancora sostanzialmente sconosciuta

1.1 Eziopatogenesi

Dal punto di vista immunopatologico, [1] si ritiene che la SM sia una malattia autoimmune organo specifica e che derivi, quindi, da una risposta autoimmune diretta contro vari antigeni proteici della mielina degli oligodendrociti.

Si ritiene, inoltre, che fattori genetici (geni HLA e altri) e ambientali (agenti infettivi soprattutto virali, quali – ad esempio - virus erpetici ed influenzali) possano giocare un ruolo nella patogenesi della malattia. In altre parole, ad una suscettibilità genetica si sovrapporrebbe l'esposizione a fattori ambientali con attivazione del processo autoimmunitario[2, 3].

1.2 Epidemiologia

La SM è la più frequente malattia neurologica tra i giovani adulti, manifestandosi più frequentemente tra i 20 e 40 anni, e rappresentando la causa più comune di invalidità neurologica acquisita in questa fascia di età. Nella nostra area geografica, questa malattia ha una prevalenza di 81.5/100.000 abitanti e un'incidenza di 4-5 nuovi casi all'anno per 100.000 abitanti [4]. La SM è quindi una malattia comune. La malattia inizia generalmente nella terza o quarta decade di vita, ma può esordire a qualsiasi età.

La diffusione della sclerosi multipla non è uniforme nelle diverse regioni geografiche: in linea generale, infatti, la prevalenza tende a crescere con l'aumentare della latitudine. Questo ha portato in passato a distinguere aree geografiche ad alta prevalenza, come ad esempio la Scandinavia e il Regno Unito (>30/100.000) e aree a bassa prevalenza (<10/100.000), tra cui le regioni mediterranee, Italia inclusa [4] [5] [6].

Ci sono tuttavia alcune importanti contraddizioni a questa regola, come ad esempio la Sardegna, in cui la prevalenza della malattia è di 140/100.000 abitanti

Per quanto riguarda la provincia di Padova, uno studio epidemiologico recente eseguito dalla Clinica Neurologica, pubblicato nel 2003 [7], ha mostrato i seguenti dati (vedi anche le Figure 1.1 e 1.2):

Incidenza	4-5/100.000/anno
Prevalenza (al 31/12/1999)	81/100.000 Prevalenza attuale: \cong 95-100/100.000
Rapporto F/M	2,4/1
Mortalità (1995-1999)	0,4/100.000

TABELLA 1.1. Incidenza e prevalenza nella SM

Nella fascia d'età compresa tra 25 e 45 anni la prevalenza nel sesso femminile è maggiore ai 200 casi/100.000 abitanti.

L'incidenza e la prevalenza appaiono in costante aumento [7], ma non è ancora chiaro se questa crescita sia da attribuirsi ad un effettivo aumento del rischio o, se in fianco a questo, un ruolo rilevante sia giocato da una diagnosi sempre più precoce, resa possibile da metodiche diagnostiche sempre più sensibili e accurate.

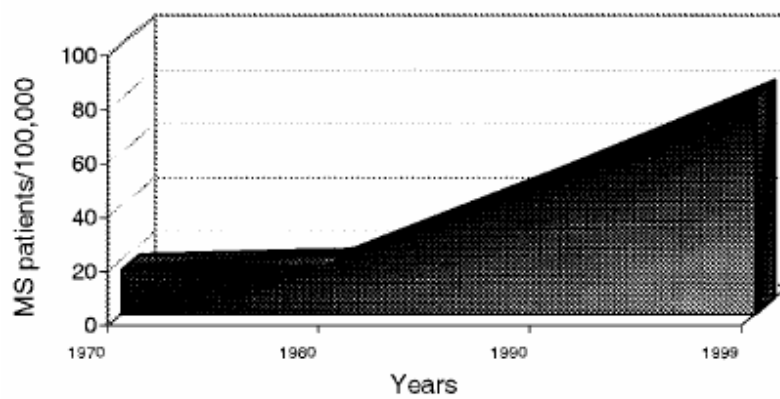


FIGURA 1.1. Andamento della prevalenza della SM nella provincia di Padova nel periodo 1970-99

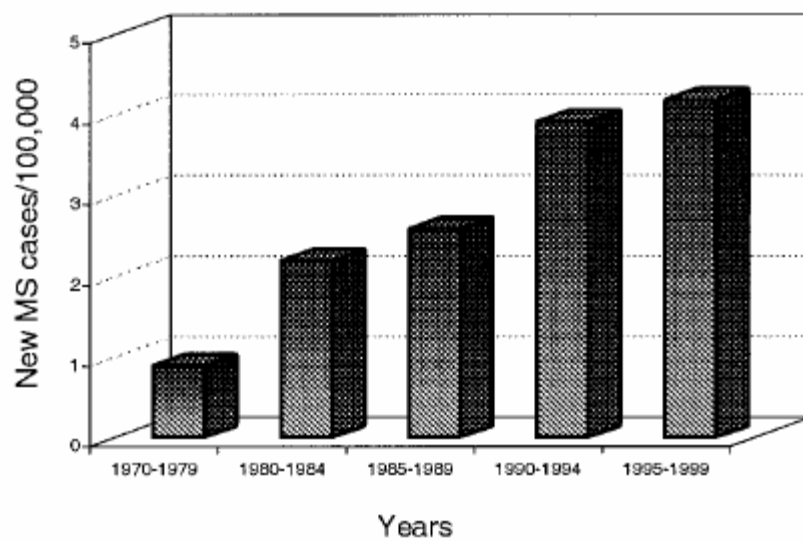


FIGURA 1.2. Andamento dell'incidenza della SM nella provincia di Padova nel periodo 1970-99

1.3 Clinica

Nella malattia viene coinvolta la sostanza bianca encefalica, cerebellare, del tronco encefalico, e spinale. Molto spesso è colpito il nervo ottico. Alla demielinizzazione si associa un secondario danno assonale, che tuttavia riveste un ruolo primario nei processi di progressione della malattia e di atrofia cerebrale.

Conseguenza della demielinizzazione multifocale è l'eterogeneità dei sintomi e dei segni tipica della SM: possono essere presenti sintomi e segni motori, sensitivi, cerebellari, deficit delle funzioni cognitive, deficit dei nervi cranici, disfunzioni intestinali, urinarie, sessuali, oltre a numerosi sintomi parossistici.

Esiste una scala di valutazione neurologica del paziente con SM riconosciuta a livello internazionale, chiamata EDSS (Expanded Disability Status Scale). Tale scala fornisce un punteggio calcolato sulla base dell'interessamento dei diversi sistemi funzionali neurologici (Figura 1.3)

neurostatus

KURTZKE EXPANDED DISABILITY SCALE (EDSS)

0	normal neurological exam (all grade 0 in FS)	5.0	ambulatory without aid or rest for >200 m (usual FS equivalents are one grade 5 alone, others 0 or 1; or combinations of lesser grades usually exceeding specifications for step 4.5)
1.0	no disability, minimal signs in one FS1 (i.e. grade 1)	5.5	ambulatory without aid or rest > 100 m
1.5	no disability, minimal signs in more than one FS1 (more than one grade 1)	6.0	unilateral assistance (cane or crutch) required to walk at least 100 m with or without resting
2.0	minimal disability in one FS (one FS grade 2, others 0 or 1)	6.5	constant bilateral assistance (canes or crutches) required to walk at least 20 m without resting
2.5	minimal disability in two FS (two FS grade 2, others 0 or 1)	7.0	unable to walk 5 m even with aid, essentially restricted to wheelchair; wheels self and transfers alone; up and about in wheelchair some 12 h a day
3.0	moderate disability in one FS (one FS grade 3, others 0 or 1) or mild disability in three or four FS (three/four FS grade 2, others 0 or 1) though fully ambulatory	7.5	unable to take more than a few steps; restricted to wheelchair; may need some help in transfer and in wheeling self
3.5	fully ambulatory but with moderate disability in one FS (one grade 3) and one or two FS grade 2; or two FS grade 3; or five FS grade 2 (others 0 or 1)	8.0	essentially restricted to bed or chair or perambulated in wheelchair, but out of bed most of day; retains many self-care functions; generally has effective use of arms
4.0	ambulatory without aid or rest for > 500 m; up and about some 12 hours a day despite relatively severe disability consisting of one FS grade 4 (others 0 or 1), or combinations of lesser grades exceeding limits of previous steps	8.5	essentially restricted to bed much of the day; has some effective use of arm(s); retains some self-care functions
4.5	ambulatory without aid or rest for > 300 m; up and about much of the day; characterised by relatively severe disability usually consisting of one FS grade 4 or combinations of lesser grades exceeding limits of previous steps	9.0	helpless bed patient; can communicate and eat
		9.5	totally helpless bed patient; unable to communicate effectively or eat/swallow
		10.0	death due to MS

NEUROSTATUS SCORING

Scoring Sheet for a standardised neurological examination and assessment of Kurtzke's Functional Systems and Expanded Disability Status Scale in Multiple Sclerosis

STUDY NAME _____

PERSONAL INFORMATION

Patient _____

Date of Birth (04-Jun-1980) - -

Centre Nr/Country _____

Name of EDSS rater _____

Date of Examination - - 2 0

SYNOPSIS OF FS SCORES

1. Visual¹ 5. Sensory

2. Brainstem 6. Bowel/Bladder¹

3. Pyramidal 7. Cerebral

4. Cerebellar ¹ converted FS Score _____

EDSS Step Signature _____

1. VISUAL (OPTIC) FUNCTIONS

OPTIC FUNCTIONS

	OD	OS
Visual acuity (corrected)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Visual fields	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Scotoma

* Disc pallor

FUNCTIONAL SYSTEM SCORE

2. BRAINSTEM FUNCTIONS

CRANIAL NERVE EXAMINATION

Extraocular movements (EOM) impairment	<input type="text"/>
Nystagmus	<input type="text"/>
Trigeminal damage	<input type="text"/>
Facial weakness	<input type="text"/>

Hearing loss

Dysarthria

Dysphagia

Other cranial nerve functions

FUNCTIONAL SYSTEM SCORE

3. PYRAMIDAL FUNCTIONS

REFLEXES

	R	> <	L
Biceps	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Triceps	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Brachioradialis	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Knee	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ankle	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Plantar response	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Cutaneous reflexes	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
* Palmomental reflex	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Knee flexors

Knee extensors

Plantar flexion (feet/toes)

Dorsiflexion (feet/toes)

* Position test UE, pronation

* Position test UE, downward drift

* Position test LE, sinking

Able to lift only one leg at a time (grade in *) *

* Walking on heels

* Walking on toes

* Hopping on one foot

FUNCTIONAL SYSTEM SCORE

LIMB STRENGTH

	R	L
Deltoids	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Biceps	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Triceps	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Wrist/finger flexors	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Wrist/finger extensors	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Hip flexors	<input type="text"/>	<input type="text"/>

* = optional

SPASTICITY

Arms	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Legs	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Gait	<input type="text"/>	<input type="text"/>

FUNCTIONAL SYSTEM SCORE

FIGURA 1.3. Modulo di EDSS

La SM può manifestarsi non solo con segni e sintomi neurologici, ma anche con deficit cognitivi e con disturbi psichiatrici.

1.4 Disturbi cognitivi nella sclerosi multipla

La compromissione delle funzioni cognitive è alquanto frequente nei pazienti affetti da SM. La prevalenza emersa dagli studi fino ad oggi eseguiti oscilla in un range piuttosto ampio, compreso tra il 30% e il 70%. La variabilità dei dati ottenuti può essere ricondotta ai criteri clinici con i quali vengono selezionati i pazienti presi in esame (tipo di presentazione clinica, tipo di decorso, grado di disabilità globale e nei singoli sistemi funzionali dell'EDSS, e durata della malattia), nonché alle differenze metodologiche tra i diversi studi, in particolare per quanto riguarda il numero e la batteria dei test neuropsicologici utilizzati, e infine alla durata del periodo di osservazione. Da questi studi [8],[9] emergono tuttavia alcune caratteristiche del deficit cognitivo nella SM: si tratta di un processo non uniforme, dal decorso variabile, che non correla con il grado di disabilità fisica, la cui prevalenza sembra maggiore nelle forme secondarie progressive (SP) rispetto a quelle recidivanti-remittenti (RR) e primarie progressive (PP).

Il pattern dei deficit cognitivi nella SM non è omogeneo. Le funzioni cognitive più frequentemente compromesse sono la memoria recente, l'attenzione sostenuta, la fluency verbale, la percezione visuo-spaziale, la velocità di elaborazione delle informazioni e l'abilità di soluzione dei problemi. L'intelligenza generale, il linguaggio e la memoria semantica sono invece solitamente preservate o meno compromesse, almeno nelle fasi iniziali della malattia [10, 11]. E' stato suggerito che la compromissione cognitiva sia primariamente sostenuta dall'alterazione dei collegamenti tra le aree associative corticali nonché dall'interruzione delle connessioni cortico-sottocorticali [12, 13].

Negli ultimi anni, tuttavia, è emersa la convinzione che i disturbi cognitivi si manifestino precocemente nel corso della SM e indipendentemente dal grado di

disabilità fisica, dalla durata della malattia, e dalle variabili demografiche, se presenti, hanno un impatto negativo sugli aspetti sociali e sulla qualità di vita [14]. Le conoscenze relative all'evoluzione dei deficit derivano da pochi studi longitudinali controllati condotti su serie cliniche di pazienti che non hanno condotto a risultati omogenei. Amato et al. [15], hanno osservato nella maggior parte dei soggetti un peggioramento delle prestazioni ottenute ai test neuropsicologici dopo un follow-up medio di 4 anni, mentre Kujala et al. [16] hanno rilevato che solo i pazienti con deficit cognitivi alla valutazione basale presentavano un peggioramento nel corso del follow-up.

1.5 Assessment neuropsicologico

L'osservazione della frequente compromissione cognitiva nei pazienti affetti da SM ha condotto, negli ultimi anni, ad un crescente interesse nella valutazione neuropsicologica.

L'esame estensivo delle funzioni cognitive richiede un impiego di risorse tale da limitarne l'uso nella valutazione di routine delle persone con SM, pertanto ingenti sforzi sono stati impiegati per l'identificazione di batterie brevi che avessero adeguata sensibilità e specificità seppur composte da un numero di test relativamente limitato (Tabella 1.2) [17]. Tra le batterie brevi che sono state impiegate nei pazienti affetti da patologia demielinizzante si ricorda il Mini-Mental-State-Examination (MMSE) [18] [19], la Cognitive Capacity Screening Battery (CCSE) [19] [20] e la Neuropsychological screening Battery (NSB) [19]. Tali strumenti sono stati messi a punto per la valutazione del deterioramento mentale in ambito medico ma non sono specifici per la SM.

Recentemente sono state costruite batterie neuropsicologiche brevi atte ad

identificare i deficit cognitivi nella patologia demielinizzante [21-23]

La Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRBNT) è stata messa a punto dal gruppo di studio sulle funzioni cognitive della National Multiple Sclerosis Society specificatamente per essere usata sia come misura di outcome nelle sperimentazioni cliniche controllate, che come batteria di screening. La sua somministrazione richiede 40-45 minuti e si compone dei seguenti test:

- Selective Reminding Test (SRT e SRT-R) per la valutazione dell'apprendimento, la memoria verbale e la rievocazione differita a lungo termine.
- 10/36 Spatial Recall Test (10/36 SRT) atto all'apprezzamento visuo-spaziale e alla rievocazione differita
- Symbol Digit Modalities test (SDMT) per l'attenzione sostenuta
- Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) un test per la valutazione dell'attenzione sostenuta e la velocità di elaborazione dell'informazione
- Word List Generation (WLG), un test di fluenza verbale, fonemica o semantica.

La Screening Examination For Cognitive Impairment (SEFCI), sviluppata per la valutazione delle persone affette da SM, richiede 25-30 minuti per la somministrazione e si compone dei seguenti test:

- Symbol Digit Modalities test (SDMT), presente anche nella BRBNT
- Short Word List, composto da 10 parole e ripetizione
- Shipley Institute of Living Scale, test di conoscenza del vocabolario e test di astrazione e categorizzazione

Infine la Basso è composta da 6 test:

- Seashore rhythm test , per la valutazione dell'attenzione uditiva

- Controlled Oral Word Association Test (COWAT), per le rievocazioni semantiche
- Logical memory savings score test, per l'apprendimento verbale
- Capacità sensoriali e percettive (grafoestesia, tempo ed errori di stereognosi)

Batteria breve	Autore, anno	N.persone con SM	N. di controlli	Sensibilità	Specificità
MMSE <28	Beatty, 1990	85	-	0.62-0.67	0.79-0.84
MMSE <21	Heaton, 1996	40	90	0.28	1
CCSE	Heaton, 1996	40	90	0.31	1
NSB totale	Heaton, 1996	40	90	0.72	0.75
NSB cognitivo	Heaton, 1996	40	90	0.41	1
BRBNT, 2+test	Rao, 1991	100	100	0.71	0.94
BRBNT, 1+test	Rao, 1991	100	100	0.90	0.77
SEFCI, 1+test	Beatty, 1995	103	32	0.86	0.90
Basso	Basso, 1996)	84	-	1.0	0.82

TABELLA 1.2. Sensibilità e specificità di batterie neuropsicologiche brevi nella SM rispetto ad una valutazione estensiva. Modificata da [17]

1.6 Deficit cognitivi e neuroimaging

Rao et al. [12] hanno suggerito che l'entità del carico lesionale in T2 possa rappresentare un importante fattore predittivo della comparsa del deficit cognitivo. La correlazione tra carico lesionale encefalico e deterioramento cognitivo non è stata tuttavia confermata in altri studi. Ciò può essere in parte legato alla presenza di alterazioni microscopiche nella cosiddetta sostanza bianca apparentemente normale (SBAN), nonché al diverso substrato patologico delle lesioni iperintense in T2 (edema, demielinizzazione, infiammazione, perdita assonale).

E' con il recente avvento della *Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI)* che il deficit cognitivo precoce emerge come aspetto clinico rilevante nella SM. Studi recenti,[24-27] hanno infatti mostrato una precocissima riorganizzazione corticale (per es., attivazione di aree corticali supplementari, controlaterali e apparentemente non correlate alla funzione compromessa) nei pazienti con Sindrome Cliniche Isolate

(primi eventi infiammatori cerebrali suggestivi di patologia demielinizzante) e con SM relapsing-remitting, talora prima della percezione clinica e testistica di deficit cognitivi. Alcuni studi meritano di essere brevemente riassunti.

Staffen et al.[25] hanno condotto uno studio mediante fMRI durante lo svolgimento del Paced Visual Serial Addition Task (PVSAT) in 21 pazienti affetti da sclerosi multipla RR clinicamente definita e 20 soggetti di controllo (selezionati per le variabili di età, sex, scolarità e handedness); tutti i partecipanti sono stati inoltre valutati attraverso la Wechsler Memory Scale (WMS) e la batteria Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC). I risultati hanno evidenziato una differenza significativa tra i pazienti e il gruppo di controllo sia nell'indice generale di memoria, determinato dalla WMS che in alcuni sub test della stessa (memoria logica, digit span e riproduzione visiva). Tale risultato è in accordo con quanto riscontrato da Thornton et al [28] in una meta analisi su 36 studi riguardanti i disturbi mnestici nella sclerosi multipla i cui esiti sarebbero suggestivi della presenza di un disturbo globale della memoria in particolare riguardante la memoria a breve termine, la memoria di lavoro (Working memory) e la memoria a lungo termine. Differenze sono state inoltre riscontrate nel PVSAT durante la fMRI tra i pazienti e i controlli: i soggetti di controllo hanno mostrato una significativa attivazione dell'area 32 di Brodmann (emisfero dx) mentre i pazienti hanno mostrato attivazione nell'area 39 (emisfero sx) e nelle regioni prefrontali 6, 8, 9 (emisfero dx).

Staffen e colleghi [25] hanno interpretato il pattern di attivazione mostrato dai pazienti con SM come l'espressione di una maggiore richiesta di attenzione e working memory per la performance del PVSAT rispetto ai controlli in presenza di performance normale nel compito di attenzione sostenuta. Ciò sarebbe indicativo di un meccanismo la cui finalità sarebbe compensare o preservare specifiche funzioni e

fornirebbe evidenza circa la plasticità cerebrale durante le precoci fasi della sclerosi multipla.

Lo studio della differente compromissione dei processi attentivi nella SM è stato affrontato da Penner et al.[29] mediante l'utilizzo della fMRI. L'obiettivo era quello di determinare se il diverso livello di compromissione attentiva rispecchiava alterazioni nei pattern di attivazione in tre specifici test di attenzione che differivano tra di loro per il grado di complessità. I 14 pazienti arruolati sono stati classificati come moderatamente o severamente compromessi attraverso i risultati ottenuti durante la somministrazione di una batteria computerizzata di tests eseguita fuori dalla RMN e durante l'indagine con fMRI.

I pazienti definiti moderatamente compromessi hanno mostrato un incremento di attivazione di aree localizzate principalmente nella corteccia frontale e nella corteccia parietale posteriore rispetto ai controlli sani. Tale effetto decresceva all'aumentare della complessità del compito ed era particolarmente evidente nei compiti di allerta. Al contrario nei pazienti severamente compromessi non è stato osservato un incremento nell'attivazione nelle strutture prefrontali e non si sono verificate differenze nell'attivazione della corteccia premotoria se confrontati con i soggetti di controllo. I risultati ottenuti, secondo i ricercatori, suggeriscono che fenomeni compensatori nei pazienti affetti da SM sono in parte determinati dall'integrazione funzionale delle aree associative frontali e parietali.

Al fine di determinare l'esistenza di una precoce riorganizzazione corticale durante lo svolgimento di processi cognitivi superiori Audin e colleghi [26] hanno condotto uno studio mediante il Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) in corso di fMRI in 10 pazienti con sindrome clinicamente isolata (CIS) suggestiva di Sclerosi Multipla. I risultati, comparati con la performance ottenuta da 10 controlli

sani (simile età sesso e scolarità), hanno mostrato una simile prestazione tra il gruppo di pazienti ed il gruppo di controllo durante lo svolgimento del test sebbene i pattern di attivazione fossero differenti. In particolare i pazienti hanno mostrato una significativa maggior attivazione nella corteccia frontopolare dx, nella corteccia prefrontale laterale bilateralmente e nel cervelletto dx. Lo studio sembrerebbe quindi dimostrare l'esistenza di un meccanismo di compensazione corticale già presente nella fase più precoce della malattia e suggerisce inoltre l'utilità dell'impiego della fMRI nell'evidenziare un attivo processo di neuroplasticità che può mascherare l'espressione cognitiva della patologia cerebrale nelle precocissime fasi della sclerosi multipla.

Sweet et al [30] hanno studiato il pattern di attivazione corticale durante lo svolgimento di un test (n-back test) atto alla valutazione dei processi di working memory verbali in 15 pazienti affetti da SM e 15 soggetti di controllo. L'intensità di segnale è risultata essere positivamente correlata al crescente livello di difficoltà richiesto dal test nelle regioni anteriori (l'area premotoria, l'area supplementare motoria e la corteccia prefrontale dorsolaterale). Ciò è risultato particolarmente evidente nei pazienti durante la prima parte del test (più semplice), mentre una minor attivazione delle porzioni del giro frontale superiore sx, il giro cingolato, ed il giro paraippocampale è stata riscontrata con l'aumentare della complessità del compito. La performance fra i due gruppi è risultata sovrapponibile sebbene i pazienti hanno mostrato una minor velocità nella risposta agli stimoli. Inoltre, nei pazienti, il carico lesionale è risultato positivamente correlato solamente con l'attivazione durante 1-back task e non correlato alla performance dei soggetti. I risultati suggeriscono che a parità di performance cognitiva esista una attività cerebrale compensatoria nei pazienti nelle regioni coinvolte nella working memory sebbene essa sembri

declinare all'aumentare della richiesta cognitiva del compito. Ciò potrebbe spiegare il motivo per il quale la prestazione nei pazienti affetti da SM decresca all'aumentare della complessità della valutazione neuropsicologica.

1.7 Decorso e prognosi

La SM è quindi una malattia eterogenea, sia dal punto di vista patologico che da quello immunologico e clinico. Clinicamente sono oggi accettate almeno quattro forme evolutive di SM (NMSS Advisory Committee on Clinical Trials 1996) (Figura 1.4 - 1.5):

- ***Relapsing-Remitting (SMRR) (a ricadute e remissioni)***: nella quale episodi acuti di disfunzione neurologica (ricadute) sono seguiti da recupero totale o parziale, e sono intervallati da periodi caratterizzati da assenza di progressione della malattia (remissioni).
- ***Secondary-Progressive (SMSP) (secondaria progressiva)***: la malattia ha inizialmente un decorso Relapsing-Remitting, seguito da una progressione che può essere o no associata a ricadute, lievi remissioni e plateaux.
- ***Primary-Progressive (SMPP) (primaria progressiva)***: nella quale fin dall'esordio clinico si osserva un andamento progressivo della malattia, con o senza occasionali plateaux e temporanei lievi miglioramenti, ma senza ricadute acute o peggioramenti improvvisi.

- ***Progressive-Relapsing (SMPR)*** (*progressiva con ricadute*): la malattia ha un andamento progressivo dall'esordio ma con evidenti episodi acuti, seguiti o meno da completo recupero.

Considerando la severità clinica della malattia possono inoltre essere identificate due forme “estreme” di SM:

- SM “***Benigna***”: nella quale i pazienti, a più di 15 anni di distanza dall'esordio clinico, non hanno sviluppato disabilità/deficit neurologici significativi, deambulano per oltre un km senza appoggio e sono completamente autonomi nell'arco della giornata.
- SM “***Maligna***”: malattia con un decorso rapidamente progressivo, che porta ad una grave disabilità o a morte in un arco di tempo di pochi anni dall'esordio (il paziente arriva alla sedia a rotelle in 5-6 anni).

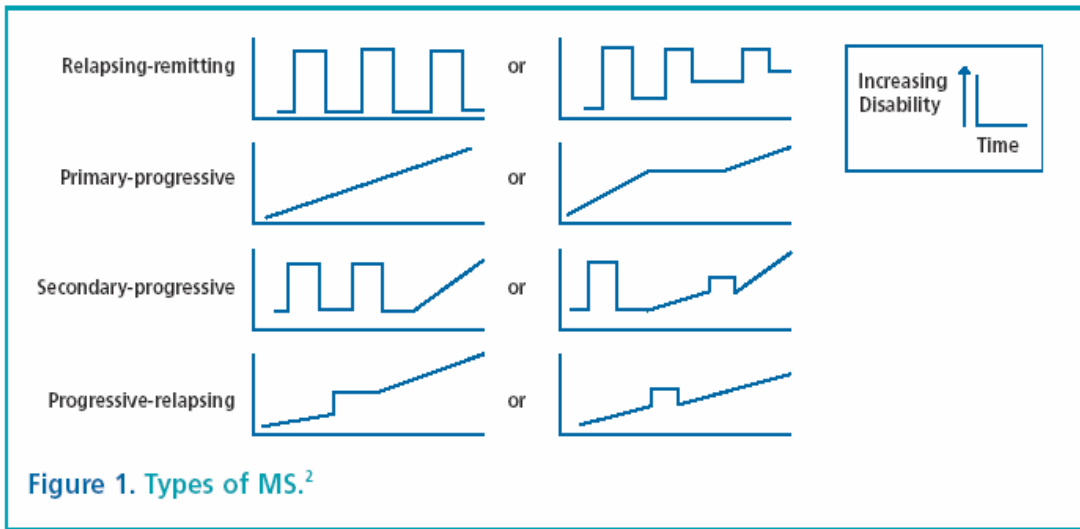


FIGURA 1.4. Rappresentazione grafica dei diversi tipi evolutivi di SM.

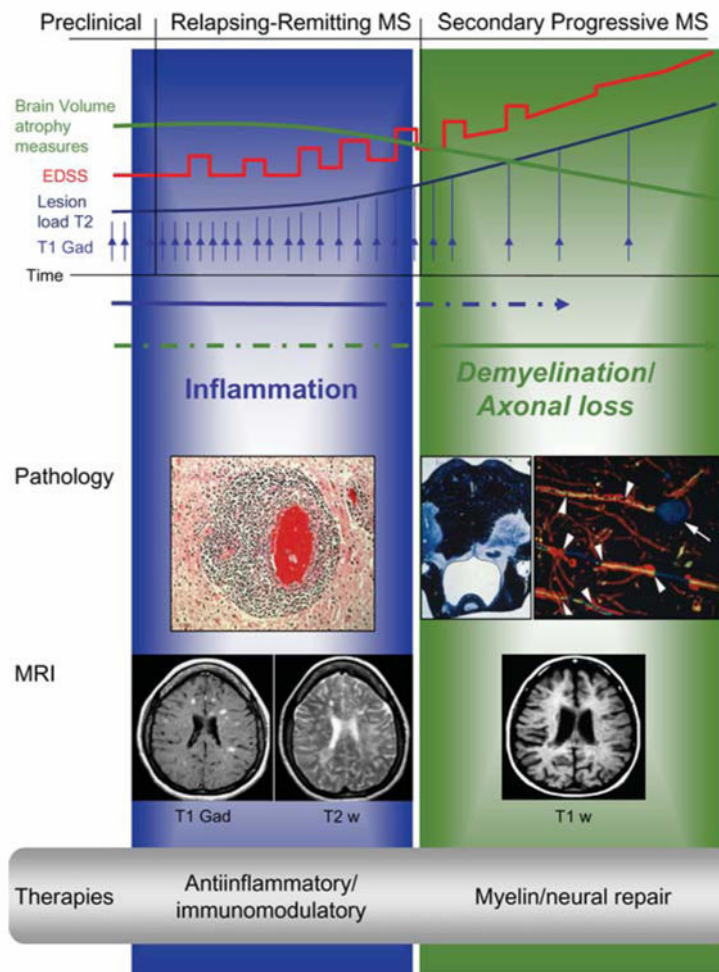


FIGURA 1.5. Disegno schematico dell'evoluzione clinica della SM.

La risposta al trattamento è eterogenea e imprevedibile. I fattori che sottendono l'eterogeneità clinica, radiologica e di risposta alla terapia non sono completamente conosciuti ma sicuramente includono un complesso tratto genetico che si traduce in diverse alterazioni immunitarie e/o una maggiore vulnerabilità del parenchima del SNC agli insulti infiammatori o una ridotta capacità di riparazione del danno.

1.8 La diagnosi di sclerosi multipla

Tre sono gli elementi fondamentali su cui si basa l'iter diagnostico della SM:

1. la dimostrazione della **“disseminazione spaziale”** delle lesioni infiammatorie cerebrali
2. la dimostrazione della **“disseminazione temporale”** delle lesioni
3. la mancanza di elementi suggestivi di altra patologia che, all'esordio clinico, può mimare la malattia: **“nessuna spiegazione migliore”** (dall'inglese: “no better explanation”).

Brevemente, la “disseminazione spaziale” implica la necessità di evidenziare all'esame obiettivo neurologico “segni di interessamento multifocale del SNC” , in altre parole i segni clinici osservati non possono essere spiegati con una singola lesione del SNC, mentre la “disseminazione temporale” si riferisce alla necessità di documentare due o più episodi di deficit neurologico distanziati nel tempo, ad espressione del caratteristico andamento recidivante-remittente o progressivo della malattia.

I primi criteri diagnostici di SM furono proposti da Schumacher et al. nel 1965 ⁵ e si basavano esclusivamente su parametri clinici che possono essere così sintetizzati: età di esordio tra 10 e 50 anni, ricaduta = sintomi persistenti per oltre 24

ore con un intervallo di tempo di almeno un mese tra due ricadute, dovevano essere rilevati segni neurologici “oggettivi” all’esame neurologico, dovevano essere dimostrate la disseminazione nel tempo e nello spazio (due sedi anatomiche) dei sintomi/segni, non dovevano esserci spiegazioni alternative ai disturbi lamentati dal paziente. Tre possibili diagnosi di SM potevano essere formulate: SM possibile, SM probabile, SM clinicamente definita. La Tabella 1.3 riassume i Criteri di Schumacher.

<p>L’esame neurologico rivela:</p> <ul style="list-style-type: none">- segni obiettivi di disfunzione del SNC- segni di coinvolgimento di due sistemi funzionalmente separati <p>La storia clinica indica conferma la disseminazione temporale e/o spaziale delle lesioni</p> <p>La malattia riflette prevalentemente il coinvolgimento della sostanza bianca del SNC</p> <p>Il coinvolgimento del SNC è del seguente tipo:</p> <ul style="list-style-type: none">- due o più episodi, che durino almeno 24 ore distanziati di almeno un mese- progressione lenta o a gradini dei segni e sintomi nell’arco di almeno un mese <p>Età all’esordio tra 10 e 50 anni</p> <p>Segni e sintomi non possono essere spiegati da altri processi morbosi</p>
--

TABELLA 1.3. Criteri di Schumacher per la diagnosi di SM (1965)

Si può notare come i Criteri di Schumacher non prevedessero l’aiuto di accertamenti strumentali. Va ricordato che in quel periodo storico, solo l’analisi del liquido cerebrospinale (LCS o liquor) poteva fornire elementi per ipotizzare una “infiammazione cerebrale”. E’ solo negli anni ’70 che si sviluppano metodiche

elettroforetiche più raffinate e che si comincia a studiare estensivamente la sintesi intratecale di IgG sia con metodi quantitativi e con metodi qualitativi [31-34], e l'esame del liquor entra prepotentemente nella routine diagnostica. Inoltre, verso la fine degli anni '70 cominciano ad essere usati i potenziali evocati (PE) [35, 36] e l'arrivo della tomografia assiale computerizzata (TAC) rende più facile e rapida la diagnostica differenziale.

Per tale motivo, all'inizio degli anni '80 si sente la necessità di "aggiornare" i criteri diagnostici per la SM, introducendo elementi strumentali/paraclinici nella definizione della malattia. I Criteri di Poser vengono alla luce nel 1983 [37]. Questi Criteri fanno propri i criteri clinici di Schumacher, ma nella definizione della disseminazione nel tempo e nello spazio delle lesioni si avvalgono anche dei PE e della TAC, e incorporano la dimostrazione delle BOIgG nel LCS (Tabella 1.4). Vengono identificate alcune sub-categorie diagnostiche: SM Clinica Definita, SM definita sostenuta da esami di laboratorio, SM probabile, SM probabile sostenuta da esami di laboratorio.

Categoria Diagnostica	Numero di Lesioni			
	Ricadute	Cliniche	Paracliniche	LCS
Clinicamente Definita				
CDMS A1	2	2	NN	NN
CDMS A2	2	1	1	NN
Definita, sostenuta da esami di laboratorio:				
LSDMS B1	2	1	1	+
LSDMS B2	1	2	NN	+
LSDMS B3	1	1	1	+
Clinicamente Probabile:				
CPMS C1	2	1	-	-
CPMS C2	1	2	-	-
CPMS C3	1	1	1	-
Probabile, sostenuta da esami di laboratorio:				
LSPMS	2	-	-	+

TABELLA 1.4. I Criteri diagnostici di Poser et al. (1983). NN: non necessario.

Per quasi venti anni i Criteri di Poser hanno guidato i neurologici nella diagnosi di SM, sebbene gli ideatori di tali criteri intendessero definire delle linee guida da usarsi “solo” per scopi di ricerca.

L'introduzione della Risonanza Magnetica Nucleare (RMN) in ambito clinico, a metà degli anni '80 [38] ha avuto un impatto rilevante sulla diagnosi della SM. La RMN ha fornito, più di ogni altra tecnica di neuroimaging usata in precedenza, una sensibilità diagnostica elevata e la possibilità di una diagnostica differenziale rapida e con margini di errori relativamente contenuti [38-43].

L'uso estensivo della RMN, la crescita vertiginosa della ricerca sulla SM, assieme al perfezionamento delle metodologie per l'analisi del liquor e un più corretto impiego dei PE, hanno portato alla necessità di rivedere ulteriormente i Criteri Diagnostici per la SM. Nel 2001 venivano quindi proposti nuovi criteri, chiamati criteri di McDonald, che pongono al centro della diagnosi precoce della SM la dimostrazione della disseminazione spaziale e temporale delle lesioni mediante RMN eseguita ogni tre mesi dall'esordio clinico [44] Anche questi criteri sono basati sulla dimostrazione oggettiva delle lesioni e della loro disseminazione nel tempo e nello spazio, ma la collocazione degli altri accertamenti strumentali, quali l'esame del liquor e i PE, viene sostanzialmente rivista e sicuramente messa in secondo piano rispetto alla RMN.

Nella Tabella 1.5 vengono brevemente riassunti i Criteri di McDonald, che considerano due possibilità diagnostiche: SM e Possibile SM.

Presentazione clinica	Dati aggiuntivi necessari per l'acquisizione della diagnosi
<ul style="list-style-type: none"> • 2 o più attacchi • 2 o più lesioni clinicamente obiettivabili 	Nessuno (eventuali ulteriori evidenze devono essere compatibili con una SM)
<ul style="list-style-type: none"> • 2 o più attacchi • 1 lesione clinicamente obiettivabile 	Disseminazione nello <i>spazio</i> dimostrata da: - RMN, <i>oppure</i> - LCS positivo e 2 lesioni RM compatibili con SM, <i>oppure</i> - Successiva ricaduta riconducibile a lesione in sede diversa
<ul style="list-style-type: none"> • 1 attacco • 2 o più lesioni clinicamente obiettivabili 	Disseminazione nel <i>tempo</i> dimostrata da: - RMN, <i>oppure</i> - Successiva ricaduta
<ul style="list-style-type: none"> • 1 attacco • 1 lesione clinicamente obiettivabile (presentazione monosintomatica) 	Disseminazione nello <i>spazio</i> dimostrata da: - RMN, <i>oppure</i> - LCS positivo e 2 o più lesioni RMN compatibili con SM e Disseminazione nel <i>tempo</i> dimostrata da: - RMN, <i>oppure</i> - successiva ricaduta
<ul style="list-style-type: none"> • Esordio insidioso di sintomi compatibili con SM (SM progressiva primaria) 	LCS positivo e Disseminazione nello <i>spazio</i> dimostrata da: - Evidenza RM di 9 o più lesioni iperintense in T2 <i>oppure</i> - 2 o più lesioni RM spinali <i>oppure</i> - 4-8 lesioni RM encefaliche e 1 spinale <i>oppure</i> - PEV positivi e 4-8 lesioni RM encefaliche <i>oppure</i> - PEV positivi e <4 lesioni RM encefaliche e 1 lesione RM spinale e Disseminazione nel <i>tempo</i> dimostrata da: - RMN <i>oppure</i> - Progressione graduale per un anno

TABELLA 1.5. Criteri Diagnostici di McDonald (2001)

Nel 2005 è stata pubblicata una revisione dei criteri di McDonald [45], di poco diversa dalla versione del 2001: le modifiche riguardano l'acquisizione del criterio di disseminazione temporale alla RMN, il ruolo nella diagnosi delle lesioni spinali e i criteri diagnostici della SM primaria progressiva.

I Criteri Diagnostici di McDonald 2001 e 2005 incorporano i criteri interpretativi della RMN elaborati da Barkhof et al [46] e Tintoré et al.[47], che hanno definito come altamente suggestiva di SM una RMN che dimostri la **disseminazione spaziale** delle lesioni con almeno 3 dei seguenti quattro punti:

- 1 lesione captante gadolinio oppure 9 lesioni iperintense in T2 (Figura 1.6)
- 3 o più lesioni periventricolari
- 1 o più lesioni sottotentoriali
- 1 o più lesioni juxta-corticali (che coinvolgono le fibre a U sotto la corteccia cerebrale)

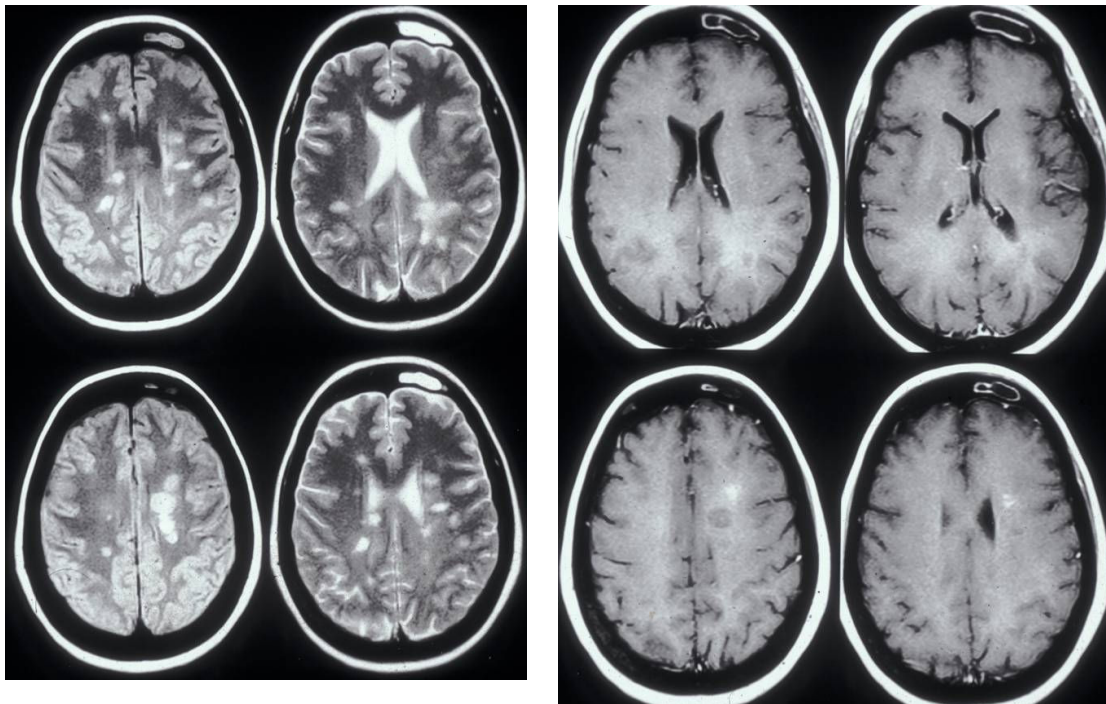


FIGURA 1.6. RMN di un paziente affetto da SM. Sono rispettati i criteri di Barkhof di disseminazione spaziale delle lesioni infiammatorie. Sono infatti dimostrate 9 lesioni in T2, più di 3 lesioni periventricolari e più di una lesione juxtacorticale.

Una lesione nel midollo spinale sostituisce una lesione encefalica sottotentoriale. Una lesione spinale captante mezzo di contrasto sostituisce una lesione encefalica captante mezzo di contrasto. La somma delle lesioni spinali e cerebrali concorre a aggiungere il numero di 9 lesioni T2 necessarie. (Figura 1.7).

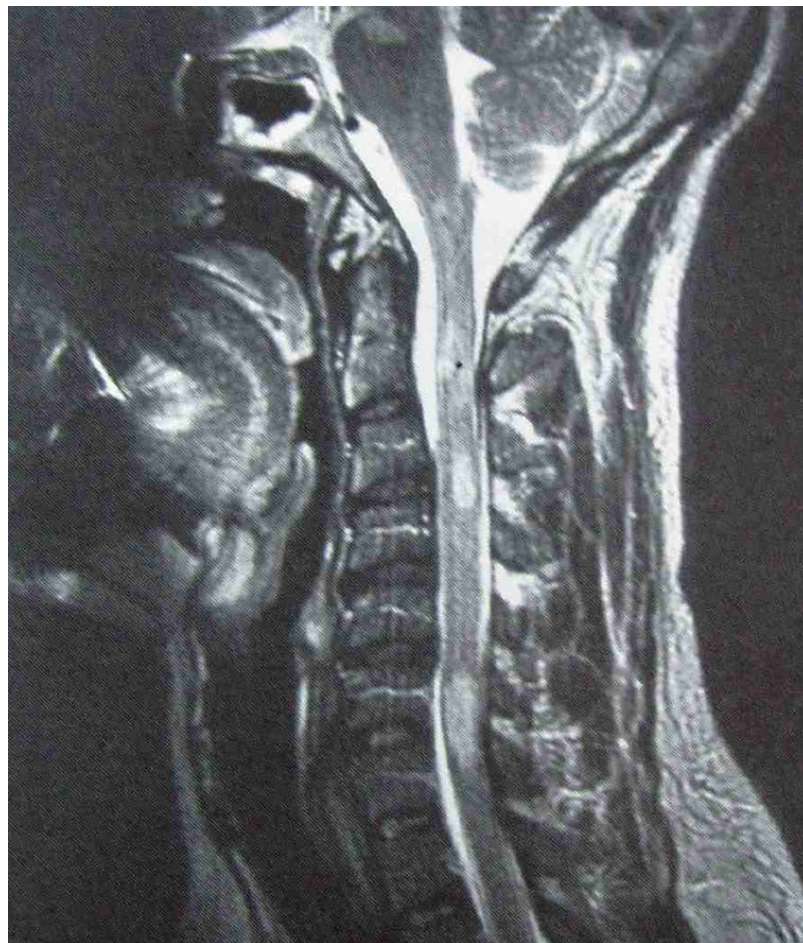


FIGURA
spinale
paziente con SM.

1.7. RMN
(T2) di un

Questi criteri offrono maggiore specificità e sensibilità rispetto ai precedenti criteri di RMN proposti da Fazekas et al. [48] e Paty et al. [49].

Secondo i Criteri diagnostici di McDonald (2001), il criterio di **disseminazione temporale** si acquisisce con RMN ripetute ogni tre mesi dall'esordio clinico e che dimostrino:

- una lesione captante gadolinio evidente in una RMN almeno tre mesi dopo l'esordio di una ricaduta e in una sede diversa da quella compatibile con la precedente ricaduta.
- una nuova lesione evidente in T2 in una RMN eseguita 6 mesi dall'esordio clinico

Nella revisione del 2005 è possibile acquisire il criterio di disseminazione temporale già con una RMN eseguita un mese dopo l'esordio clinico.

L'esame del liquido cerebrospinale

Nonostante la grande rilevanza assunta dalla RMN nei criteri di McDonald, l'analisi del liquor mantiene ancora un ruolo fondamentale nell'iter diagnostico differenziale della SM. Ciò è particolarmente vero nei casi in cui non sono soddisfatti tutti i criteri RMN per la diagnosi di SM (RMN "povera"), quando le lesioni riscontrate alla RMN mancano di specificità, quando la presentazione clinica è atipica (e.g., tumor-like) o nel caso di Sindromi Cliniche Isolate (CIS). In questi casi, infatti, eventuali alterazioni rilevate all'analisi del liquor possono fornire l'evidenza di una disseminazione spaziale e a sostegno della natura immunitaria ed infiammatoria delle lesioni RMN, e, quindi, permettono di ipotizzare la diagnosi di SM.

Le alterazioni liquorali che si rilevano frequentemente nei pazienti con SM sono la presenza di bande oligoclonali IgG (BOIgG) (>90 % dei pazienti) e un aumento di IgG index (70-80%).

Secondo i Criteri di McDonald, nel caso di un singolo attacco e l'evidenza clinica di una singola lesione (SCI), sono sufficienti 2 lesioni visibili in T2 alla RMN e la presenza di BOIgG nel LCS per raggiungere la dimostrazione della "disseminazione spaziale delle lesioni", e quindi poter formulare la diagnosi di "Possibile SM", mentre nel caso di due attacchi e l'evidenza clinica di una sola lesione (quindi disseminazione temporale già acquisita) la presenza di BOIgG o di aumento di IgG index soddisfa il criterio di disseminazione spaziale, e quindi permette di porre la diagnosi di SM definitiva. In altre parole, non è necessario acquisire i criteri di Barkhof e Tintoré per poter pensare ad una SM.

1.9 Terapia

Per quanto riguarda la terapia, possiamo brevemente dividere le terapie in disease-modifying e in terapie sintomatiche

Per tentare di ridurre il tasso di ricadute si utilizzano gli interferoni β -1a e β -1b e il glatiramer acetato, che agiscono con meccanismo immunomodulante. Recentemente è stata autorizzata l'immissione in commercio di un anticorpo monoclonale (natalizumab) efficace nelle forme di SM non responsive agli immunomodulanti. Nelle forme rapidamente progressive vengono inoltre usati farmaci immunosoppressori come ciclofosfamide, azatioprina e mitoxantrone. Le ricadute cliniche si trattano invece con terapia steroidea (metilprednisolone) endovenosa ad alte dosi. Sono attualmente in corso numerose sperimentazioni cliniche con altri farmaci immunomodulanti ed immunosoppressori.

Per quanto riguarda la terapia sintomatica, esistono farmaci contro la spasticità, i disturbi sfinterici, la fatica ed il dolore. Oltre alla terapia farmacologica,

sono importanti anche la riabilitazione neuropsicologica, la psicoterapia di supporto e le terapie fisiche.

2 La risonanza magnetica funzionale nello studio della SM

La risonanza magnetica (MRI) ha portato un mutamento radicale dell'iter diagnostico di numerose malattie neurologiche, in particolare della Sclerosi Multipla (SM). La RM riveste oggi un ruolo clinico fondamentale sia nella diagnosi che nel monitoraggio della malattia [50]. Nel campo della ricerca, uno degli obiettivi principali dell'applicazione della RM è stato quello di identificare i fattori responsabili dell'accumulo di disabilità nei pazienti. Tuttavia, nonostante il continuo sviluppo di tecniche sempre più avanzate di neuroimaging, in grado di fornire una visione sempre più accurata del danno tissutale, i meccanismi responsabili dell'irreversibile disabilità che affligge i pazienti affetti da SM sono ancora largamente sconosciuti [51].

Una delle ragioni della limitata comprensione dei meccanismi alla base della SM potrebbe essere individuata nel fatto che la severità delle manifestazioni cliniche della SM non sembra dipendere semplicemente dall'estensione del tessuto danneggiato (quantificabile con tecniche di MRI strutturale), ma pare rappresenta un equilibrio complesso tra quest'ultimo, i processi di riparazione tissutale e soprattutto la riorganizzazione corticale [27] [52] [53].

Tale processo di riadattamento limita le manifestazioni cliniche della patologia operando non solo a livello di riorganizzazione sinaptica, sia locale che distale (es. in nuclei sottocorticali che proiettano alla corteccia), ma anche a livello di reclutamento di circuiti paralleli già esistenti [54]. Una tecnica di neuroimmagine messa a punto negli ultimi vent'anni, la risonanza magnetica funzionale (fMRI), è in grado di fornire informazioni circa l'estensione e la natura della plasticità corticale che si verifica in seguito ad un danno strutturale. L'importanza dei processi di

riorganizzazione corticale nella determinazione del quadro clinico della SM, unitamente all' idoneità della MRI per definire l' impatto di tale riorganizzazione, hanno fatto sì che questa tecnica trovasse applicazione nell' ambito dello studio della SM. Prima di affrontare alcuni di questi aspetti applicativi, verrà fornita una sommaria descrizione dei principi fisici che sono alla base della fMRI.

2.1 La risonanza magnetica funzionale

La fMRI è una tecnica non-invasiva che ha trovato ampia applicazione non solo nello studio dei meccanismi neurali che sono alla base del funzionamento del sistema nervoso centrale (SNC) in soggetti sani, ma anche nel rilevamento di anomalie funzionali in soggetti colpiti da patologia neurologica.

Una prima caratteristica della fMRI riguarda l' impossibilità di misurare direttamente l' attività cerebrale elettrica. Al contrario di tecniche dirette quali i potenziali evocati (ERP) o la magnetoencefalografia (MEG), la fMRI è una tecnica indiretta, nel senso che misura grandezze fisiche associate a dei processi fisiologici che sono solo correlati all' attività elettrica dei neuroni o, se vogliamo, sono dei prodotti dell' attività neurale. Di fatto questa tecnica sfrutta ciò che il neurofisiologo italiano Angelo Mosso aveva già intuito nell' Ottocento e cioè che l' attività neurale richiede un maggior afflusso ematico al cervello. In altre parole la fMRI si basa sulle variazioni del flusso sanguigno che si pensa siano correlate all' attività neurale. Come vedremo in seguito il rapporto tra variazione del flusso ematico e variazioni dell' attività neurale elettrica non è, di fatto, ancora ben compreso.

Come la MRI anche la fMRI misura, e trasforma poi in immagini, il 'segnale magnetico' (segnale MR) prodotto dai protoni presenti nel tessuto biologico umano. In particolare, il segnale MR è prodotto dagli atomi con numero di protoni diseguale

al numero di neutroni (es. ^1H , ^{13}C , ^{19}F). Semplificando, si può dire che il segnale è prodotto principalmente dal protone che forma il nucleo dell'atomo di idrogeno (H). Questo atomo è ubiquitario nella materia organica, essendo presente nell'acqua, nelle proteine, nei grassi e nei carboidrati. Affinché il segnale MR possa essere misurato e localizzato in uno spazio tridimensionale la MRI (sia strutturale che funzionale) sfrutta tre componenti principali: Un campo magnetico statico molto potente (1.5, 3, 4, o 7 Tesla), una bobina ,o *coil* , a radio-frequenza e una bobina di gradiente.

La captazione del segnale protonico avviene secondo i principi che seguono. I protoni dei nuclei di H ruotano attorno al proprio asse, agendo per induzione elettromagnetica come un piccolo magnete con un suo dipolo (+/-). Normalmente la direzione di questi dipoli è casuale, per cui la somma dei dipoli è approssimativamente uguale a zero. Se posti in un campo magnetico esterno, come il campo magnetico statico che è sempre presente all'interno di uno *scanner* di risonanza, i dipoli dei protoni si allineano con la direzione del campo magnetico (z), creando un momento magnetico. Se, utilizzando una bobina a radio-frequenze (RF) , i protoni vengono bombardati con degli impulsi RF perpendicolari all'asse di rotazione dei protoni, questo momento magnetico (allineamento) viene 'disturbato'. A seguito di ciò, l'allineamento dei protoni rispetto alla direzione del campo magnetico (z) viene meno e i protoni passano ad uno stato di alta energia iniziando un moto di precessione sui piani x e y del campo magnetico. Quando l'impulso di radiofrequenza viene interrotto, i protoni tornano ad allinearsi (rilassamento) con la direzione del campo magnetico esterno (z) 'ri-emettendo' (da qui il termine risonanza) l'energia assorbita. L'energia rilasciata è di fatto ciò che si misura con la risonanza magnetica e cioè il segnale MR. Il processo di rilassamento (riallineamento con la direzione del campo magnetico statico) viene definito da un tempo misurabile

(T) che è caratteristico del tipo di tessuto in cui i protoni sono immersi. Questo riallineamento dei dipoli lungo il campo magnetico esterno è misurabile come intensità di una componente orizzontale e una verticale e viene caratterizzato da due costanti-tempo: T1 e T2. La costante T2 misura il tempo (breve) di sfasamento dei dipoli protonici tra loro sull'asse orizzontale (perdita di magnetizzazione = meno segnale) nella direzione orizzontale. La costante T1 misura il tempo (più lungo) di raddrizzamento dei dipoli lungo l'asse verticale (z) del campo magnetico esterno.

Senza necessità di un agente di contrasto ausiliario (quindi in modo totalmente non-invasivo) la MRI può essere utilizzata per visualizzare l'attività cerebrale (fMRI). Questa applicazione si basa sul fatto che l'attività delle cellule nervose induce un cambiamento della quantità di flusso ematico loco-regionale: quando i neuroni sono attivi, l'apporto di sangue in quella regione specifica aumenta. La fMRI si avvale delle proprietà magnetiche dell'emoglobina, una proteina presente nel sangue che ha il compito di veicolare l'ossigeno. Per ragioni non ancora del tutto chiare, la quantità di ossiemoglobina (emoglobina ossigenata) apportata ai neuroni attivi è maggiore della quantità di ossigeno effettivamente consumata. Ciò determina una variazione del rapporto tra ossiemoglobina e deossiemoglobina.

Queste due molecole complesse hanno differenti proprietà magnetiche. La deossiemoglobina è paramagnetica e causa maggior sfasamento (maggior perdita di magnetizzazione) dell'ossiemoglobina (diamagnetica) e pertanto riduce il segnale MR pesato in T2. Al contrario un aumento della quantità di ossiemoglobina (che si verifica quando i neuroni si attivano) induce minor sfasamento e un segnale MR pesato in T2 più intenso. In particolare sono le proprietà paramagnetiche dell'emoglobina deossigenata ad essere fondamentali per la fMRI, dato che il segnale MR del sangue varia in funzione del livello di ossigenazione. Maggiori

intensità del segnale MR derivano da diminuzioni nella concentrazione di deossiemoglobina e pertanto da un aumento dell'emoglobina ossigenata. Usando un'appropriata sequenza di impulsi RM, ad esempio il contrasto Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) sarà possibile individuare regioni cerebrali dove la concentrazione di deossiemoglobina aumenta o diminuisce dato che queste variazioni si riflettono sul segnale MR misurato dal sangue. Sfruttando la bobina dei gradienti è poi possibile localizzare in tre dimensioni le aree dove si registrano queste variazioni del segnale MR in funzione della concentrazione di emoglobina deossigenata. E' proprio l'uso del *coil* di gradiente che consente la spazializzazione del segnale MR creando delle piccole disomogeneità di campo che permettono di capire da quale regione dello spazio si stia originando il segnale captato.

Come menzionato in precedenza, la relazione tra la variazione del flusso ematico e l'attività neurale non è del tutto compresa. Non è infatti chiaro se l'aumento del flusso ematico sia causato da necessità metaboliche (apporto di zuccheri) o dal consumo di ossigeno. Ad ogni modo quello che si riscontra in seguito all'attività di una popolazione di neuroni è un aumento di emoglobina ossigenata e una diminuzione di emoglobina deossigenata risultante in un conseguente aumento del segnale MR pesato in T2.

I più grandi vantaggi offerti dalla fMRI sono la risoluzione spaziale (2-3 mm) e la possibilità di misurare e localizzare l'attività emodinamica dell'intero cervello. Questi vantaggi consentono di monitorare i cambiamenti del flusso ematico cerebrale all'interno dell'intero encefalo con una notevole precisione spaziale, inferiore solamente a quella offerta da tecniche di registrazione da singolo neurone. Infine, la possibilità di operare tale monitoraggio durante l'esecuzione di compiti sperimentali da parte di soggetti accomodati all'interno dello *scanner* MRI rende questa tecnica

uno strumento ideale per lo studio delle funzioni cognitive del SNC.

2.2 La riorganizzazione corticale in pazienti con SM attraverso l'fMRI

Studi condotti mediante tecniche quantitative non convenzionali di risonanza (i.e., il magnetization transfer, la RMI “pesata in diffusione” e la risonanza magnetica spettroscopica) hanno consentito di rilevare che il danno tissutale nella SM non è limitato alle lesioni visibili, ma coinvolge anche la sostanza bianca apparentemente normale e la sostanza grigia [50]. Lavori recenti hanno mostrato come i cambiamenti strutturali cerebrali e le modificazioni funzionali nei pazienti con SM siano strettamente collegati.

La prima descrizione di un *pattern* anomalo di attività corticale in pazienti con SM risale al 1998, quando Rombouts e collaboratori riportarono una maggiore estensione dell'attivazione nella corteccia visiva di pazienti SM con neurite ottica rispetto a un gruppo di controllo. Al di là del risultato specifico, questo studio ha avuto particolare importanza in quanto è stato il primo a dimostrare l'adeguatezza dell'fMRI per lo studio dell'attività corticale in pazienti con SM. Da allora molti progressi sono stati fatti, sia in termini dei protocolli utilizzati per l'acquisizione e il post-processamento delle immagini fMRI, sia per il reclutamento di campioni di pazienti con caratteristiche cliniche omogenee. Grazie a questi progressi è stato possibile far luce sulle anomalie funzionali che caratterizzano i meccanismi cerebrali dei pazienti con SM durante l'esecuzione di compiti visivi [55] [56] [53], cognitivi [25, 57] e motori [58] [59]. Nello specifico le evidenze sperimentali raccolte sull'argomento convergono nel dimostrare che nei pazienti con SM l'attivazione cerebrale associata con l'esecuzione di un dato compito è maggiore e coinvolge un maggior numero di siti rispetto a quanto accade nei soggetti neurologicamente sani.

Inoltre è stato osservato che nei pazienti con SMRR tali ‘alterazioni’ variano in modo dinamico nel tempo [60].

Nei pazienti con SM, l’incremento delle regioni cerebrali “attivate” e/o dell’intensità del pattern di attivazione è ritenuto espressione di una riorganizzazione corticale finalizzata a mantenere la funzione di aree colpite dal processo patologico.

Studi fMRI sul sistema motorio: differenze nelle diverse forme cliniche di SM

In uno studio condotto da Filippi e collaboratori [61] l’attività cerebrale di 26 pazienti con SM primaria progressiva (SMPP) e di 15 soggetti neurologicamente sani era registrata durante l’esecuzione di un compito di estensione/flessione delle dita della mano dominante. La valutazione della prestazione motoria nei due gruppi non ha messo in evidenza alcuna differenza sostanziale. Tuttavia, l’analisi dei dati fMRI ha messo in evidenza un maggiore livello di attivazione nei pazienti con SMPP rispetto al gruppo di controllo. Tale maggiore attivazione era riscontrata nel giro temporale superiore (bilateralmente; vedi Figura 2.1), nel giro frontale medio (ipsilateralmente rispetto all’arto dominante; vedi Figura 2.2) e nell’insula (controlateralmente; vedi Figura 2.3).

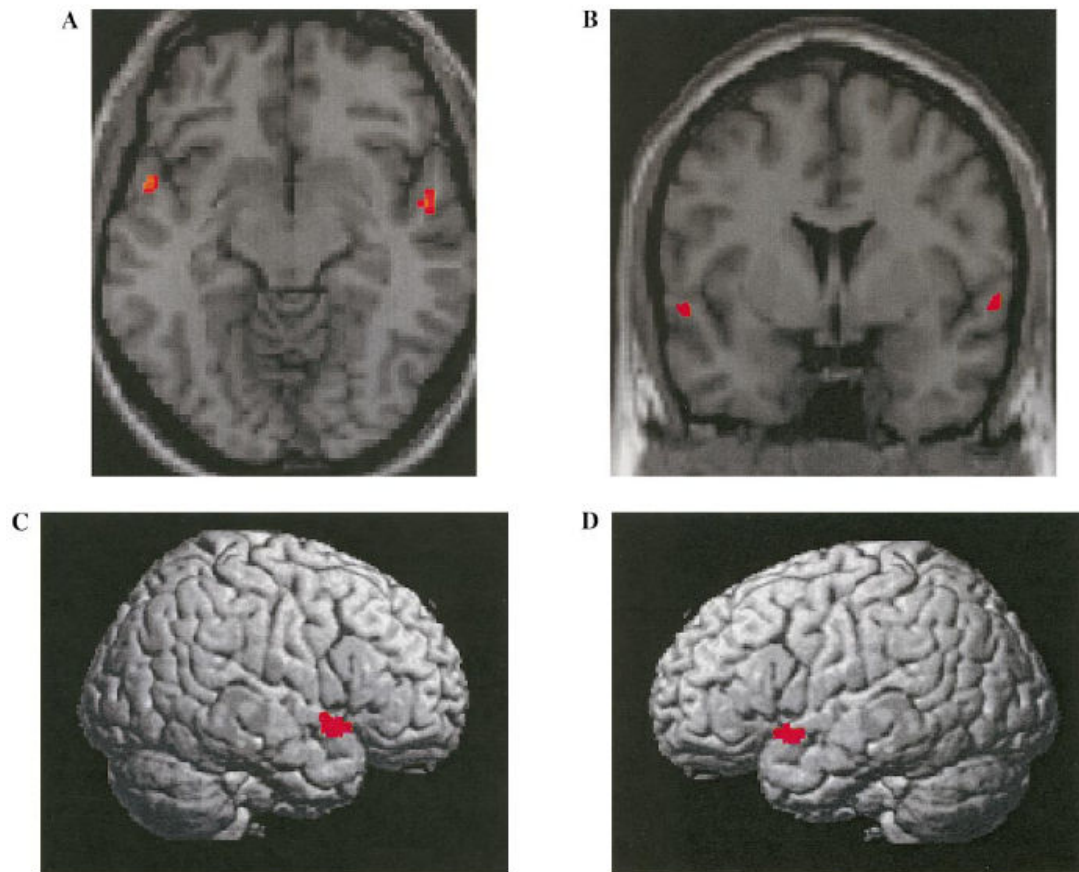


Figura 2.1. Attivazioni corticali bilaterali del giro temporale superiore in pazienti con SM primaria progressiva versus soggetti di controllo. (A) 2-D assiale. (B) 2-D coronale. (C) 3-D sagittale ipsilaterale. (D) 3-D sagittale controlaterale. Modificata da:[61].

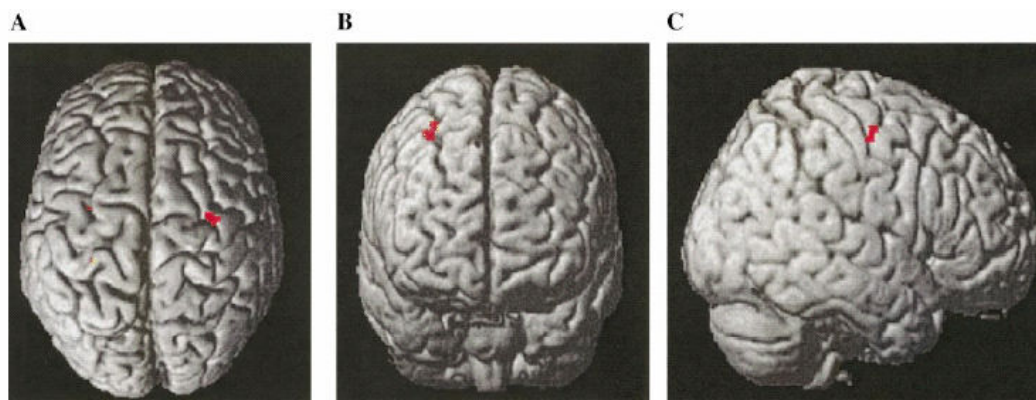


Figura 2.2. Attivazioni corticali del giro frontale medio ipsilaterale all'arto dominante in pazienti con SM primaria progressiva versus soggetti di controllo. (A) 3-D assiale. (B) 3-D coronale. (C) 3-D sagittale ipsi-laterale. Modificata da:[61].

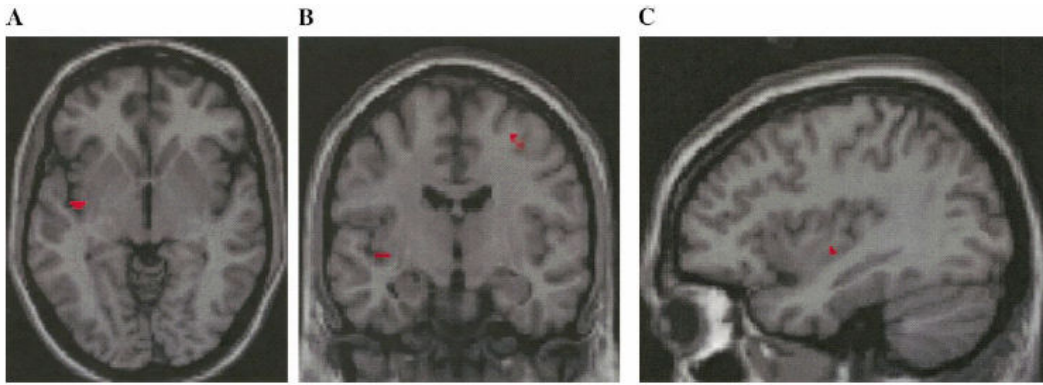


Figura 2.3. Attivazioni corticali dell'insula contro-laterale in pazienti destrimani con SPMS vs volontari sani durante l'esecuzione di un semplice compito motorio mediante la mano destra. (A) 2-D assiale. (B) 2-D coronale. (C) 2-D sagittale. Modificata da:[61].

Questo studio dimostra quindi un diverso il pattern di attivazione corticale in pazienti con SMPP rispetto a soggetti sani anche durante l'esecuzione di un semplice compito motorio con l'arto non compromesso. Tale differenza potrebbe rappresentare il fenomeno di una riorganizzazione cerebrale intervenuta a limitare le conseguenze patologiche della SM.

Al fine di valutare se il processo di riorganizzazione corticale sia presente sin dagli esordi della malattia o occorra solo successivamente, Pantano e collaboratori [62] hanno utilizzato l'fMRI per studiare l'attività corticale in 20 pazienti destrimani con un singolo episodio clinico suggestivo della presenza di SM. Il campione clinico era composto da 16 pazienti con diagnosi definitiva e 4 pazienti con diagnosi di possibile SM sulla base dei criteri di Mc Donald [44]. Il gruppo di controllo si componeva di 10 volontari sani paragonabili ai soggetti del gruppo sperimentale per età, sesso e dominanza manuale. Ai soggetti di entrambi i gruppi era chiesto di addurre in maniera sequenziale il pollice della mano destra con le rimanenti quattro dita. I due gruppi di soggetti non differivano in modo significativo rispetto all'esecuzione del compito motorio. Tuttavia, l'analisi dei dati fMRI ha messo in evidenza un pattern di attivazione cerebrale nei pazienti con SM che era indicativo di

un'avvenuta riorganizzazione corticale. Tale riorganizzazione era evidente già in pazienti con un singolo episodio clinico di SM (vedi anche [63]) e sembrava correlare in modo positivo con il tempo trascorso dall'esordio della malattia. In altri termini, la riorganizzazione corticale sembra svilupparsi gradualmente in concomitanza con l'accumulo sub-clinico di danno tissutale che caratterizza il decorso progressivo della patologia.

Al fine di valutare se esistano delle differenze nell'andamento del descritto processo di riorganizzazione corticale a seconda del particolare stadio di SM preso in considerazione, Rocca e collaboratori [51] hanno acquisito immagini fMRI durante l'esecuzione di un semplice compito motorio (estensione/flessione delle dita della mano) su una vasta popolazione di pazienti con SM. Nello specifico il gruppo di pazienti era diviso in: i) pazienti con sindrome clinicamente isolata (CIS); ii) pazienti con SM *relapsing-remitting* (SMRR) iii) pazienti con SM secondaria progressiva (SMSP). Quando confrontata con la prestazione del gruppo di controllo, la performance motoria dei pazienti con SM non mostrava differenze significative, a prescindere dallo stadio della malattia considerato. Tuttavia l'analisi dei dati di fMRI ha messo in evidenza un diverso pattern di attivazione cerebrale dei pazienti SM rispetto ai controlli; tale differenza era modulata in base allo stadio della malattia.

Nello specifico, l'esordio della patologia (pazienti CIS) era associato con un aumento dell'attivazione nelle aree che risultavano attive anche nei soggetti del gruppo di controllo durante lo svolgimento del compito (la corteccia sensori-motoria primaria controlaterale; vedi Figura 2.4). Con la progressione della malattia e con l'accumulo del danno tissutale (pazienti SMRR; vedi Figura 2.4), l'attivazione della corteccia sensori-motoria si estende anche a porzioni ipsilaterali rispetto all'arto usato per eseguire il compito motorio. Infine, con l'ulteriore avanzamento della

patologia (pazienti SMSP; vedi Figura 2.4), il *pattern* di attivazione si estende ad aree che hanno un ruolo nell'esecuzione di movimenti complessi.

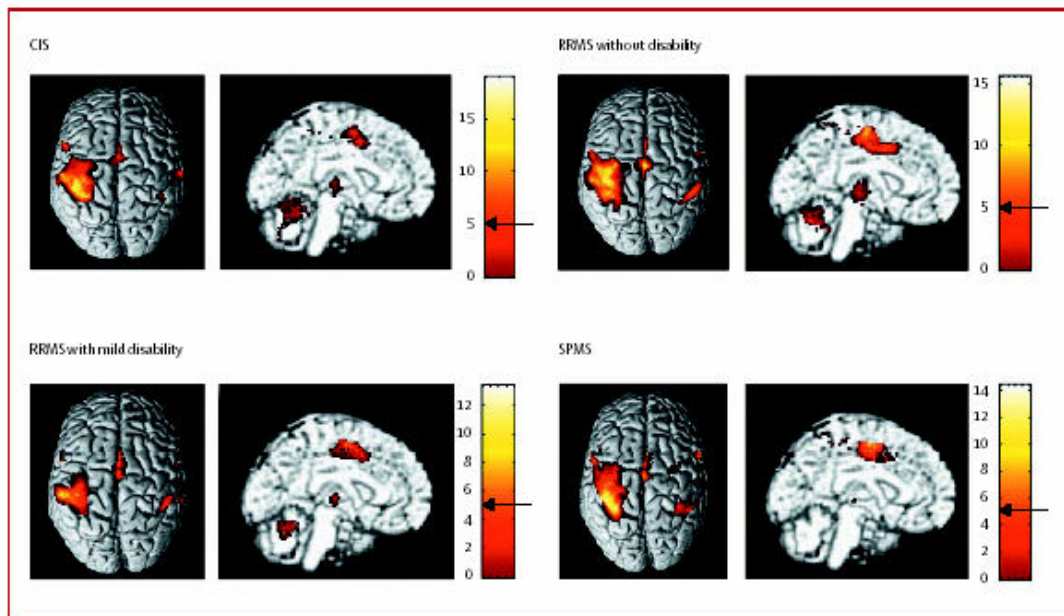


Figura 2.4 Attivazioni corticali di pazienti con SM in relazione alla forma di malattia durante un semplice compito motorio eseguito con la mano destra. Tutti i pazienti hanno dominanza manuale destra e non hanno disabilità clinica all'arto superiore. Modificato da:[51].

In un altro studio, Rocca e collaboratori [59] hanno indagato se il pattern di attivazione corticale misurato in pazienti destrimani con SMSP durante l'esecuzione di due semplici compiti motori (flessione-estensione delle dita della mano destra e flessione-estensione del piede destro) correlava con l'entità dei danni cerebrali strutturali. L'analisi dei dati fMRI relativi al compito svolto con l'arto superiore è stata effettuata comparando il *pattern* di attivazione corticale mostrato dai pazienti con SMSP rispetto a quello ottenuto nei volontari sani. I risultati hanno evidenziato un aumento significativo di attivazione nel giro frontale inferiore ipsilaterale all'arto utilizzato, nel giro frontale medio bilaterale e nel solco intraparietale controlaterale all'arto utilizzato (Figura 2.5). Il ruolo del giro frontale medio e del giro frontale inferiore, sia già stato ampiamente documentato in numerosi studi riguardanti

l'esecuzione del movimento, [64, 65]. Analogamente, la corteccia parietale (in particolare il solco intraparietale) è coinvolta nell'elaborazione degli input somato-sensoriali [66] e nella preparazione e pianificazione del movimento [67].

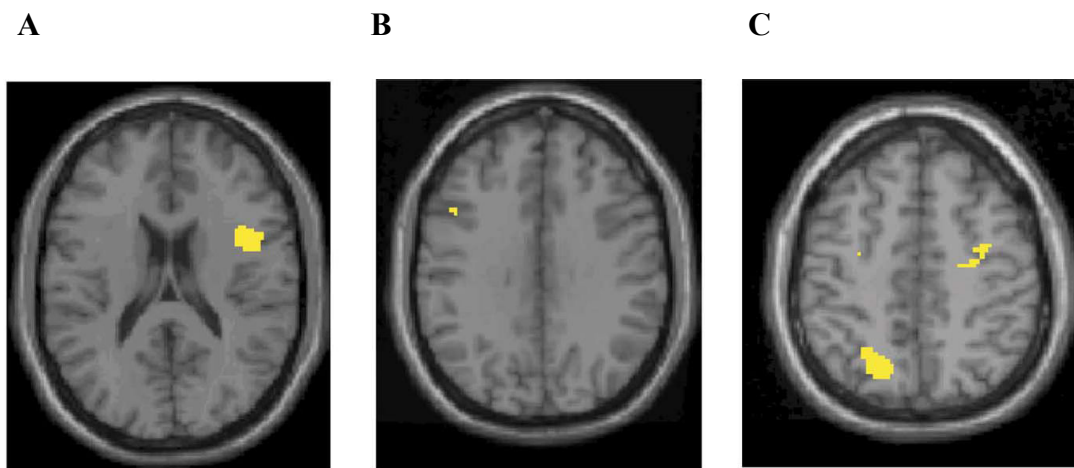


Figura 2.5. Attivazioni corticali in pazienti destrimani con SMSP durante l'esecuzione di un compito di flessione-estensione delle dita della mano dominante funzionalmente integra. Paragonati a un gruppo di volontari sani, pazienti SMSP mostrano una maggior attivazione del giro frontale medio bilaterale (B e C), del giro frontale inferiore ipsilaterale all'arto utilizzato (A), e del solco intraparietale controlaterale all'arto utilizzato (C). Modificata da [59].

L'analisi dei dati fMRI relativi al compito svolto con l'arto inferiore ha evidenziato un aumento significativo di attivazione nella corteccia sensorimotoria primaria controlaterale all'arto utilizzato, nel talamo e nella e nella parte superiore della corteccia sensori motoria secondaria (Figura 2.6).

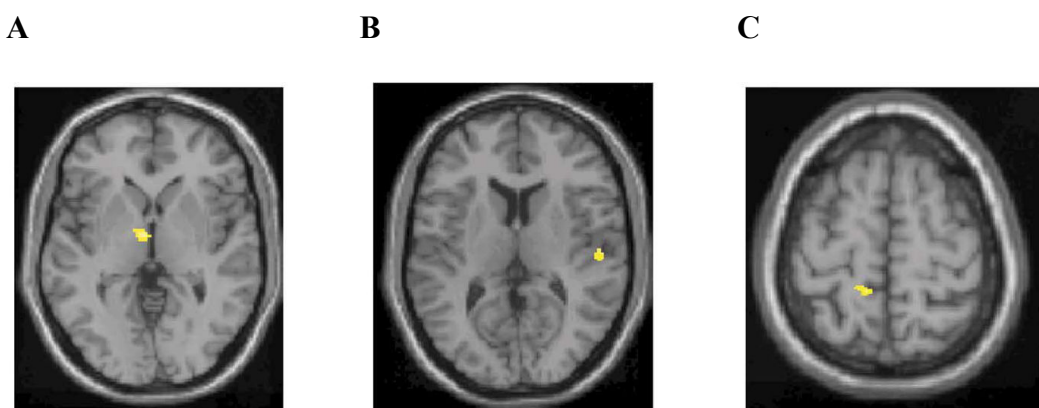


Figura 2.6 Attivazioni corticali in pazienti destrimani con SMSP durante l'esecuzione di un compito di flessione-estensione del piede destro. Paragonati a un gruppo di volontari sani, i pazienti SMSP mostrano una maggior attivazione del talamo controlaterale all'arto utilizzato (A), della corteccia sensorimotoria secondaria ipsilaterale (B), e della corteccia sensorimotoria primaria contro laterale (C). Modificata da: [59].

Sono state inoltre riscontrate, per entrambi i compiti motori, forti correlazioni tra le attivazioni delle aree corticali motorie e la severità delle modificazioni strutturali della sostanza bianca apparentemente normale e della sostanza grigia. Tale risultato sembra pertanto confermare l'ipotesi secondo la quale le modificazioni funzionali corticali possano essere indotte da danni tessutali e lesioni differenti da quelle classicamente apprezzabili nelle sequenze pesate in T2. In conclusione, lo studio ha dimostrato che processi di plasticità corticale operano anche in pazienti in fase avanzata di malattia e ciò può parzialmente limitare il danno provocato dalla stessa. I dati suggeriscono inoltre che nei pazienti le abilità funzionali siano sostenute dall'aumento del reclutamento di aree corticali con alta specializzazione.

Gli studi fino ad ora descritti hanno ampiamente dimostrato la presenza, nei pazienti affetti da SM, di meccanismi di 'iper-attivazione' corticale e in alcuni casi anche sotto-corticale durante l'esecuzione di semplici compiti motori quali la flessione-estensione delle dita della mano. È interessante, quindi, verificare se risultati analoghi possono essere trovati anche durante l'esecuzione di azioni più complesse quali la manipolazione di oggetti. Un recente studio condotto su pazienti affetti da SMRR da Filippi e collaboratori [56] ha cercato di fornire una risposta a tale quesito. Ai partecipanti (pazienti SMRR e soggetti neurologicamente sani) è stato chiesto di eseguire, durante l'acquisizione di immagini fMRI, due compiti motori: un semplice compito di flessione-estensione delle dita della mano destra e un compito più complesso di manipolazione di oggetti. Per quanto riguarda l'esecuzione del compito semplice, il confronto tra i due gruppi sperimentali ha evidenziato come nei pazienti SMRR si verifici un incremento di attivazione statisticamente significativo nell'area supplementare motoria, nella corteccia sensorimotoria

secondaria, nel cervelletto, nel giro parietale superiore e nel giro frontale inferiore contro-laterale (Figura 2.7).

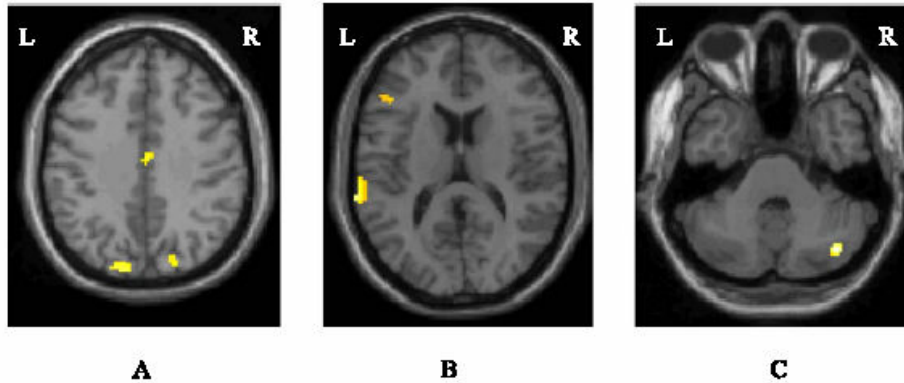


Figura 2.7. Attivazioni cerebrali in pazienti con SM durante l'esecuzione, con la mano destra, di un semplice compito motorio. Il confronto tra pazienti SMRR e volontari sani volontari sani ha mostrato un aumento di attivazione nell'area motoria supplementare e nel giro parietale superiore bilaterale (A), nella corteccia sensori motoria secondaria e nel giro frontale inferiore contro-laterale all'arto utilizzato (B), nel cervelletto ipsi-laterale, in una regione locata nel lobulo semilunare inferiore (C). Modificata da: [56]

Durante la manipolazione di oggetti i pazienti hanno mostrato incrementi di attivazione non solo a livello di alcune delle aree implicate durante l'esecuzione del compito semplice (il cervelletto, la corteccia sensorimotoria secondaria, il lobo parietale superiore insieme al il giro frontale inferiore) , ma anche in altre aree prevalentemente fronto-parietali quali il giro frontale superiore bilaterale, il giro frontale medio, l'area motoria cingolata e il lobo parietale inferiore (Figura 2.8).

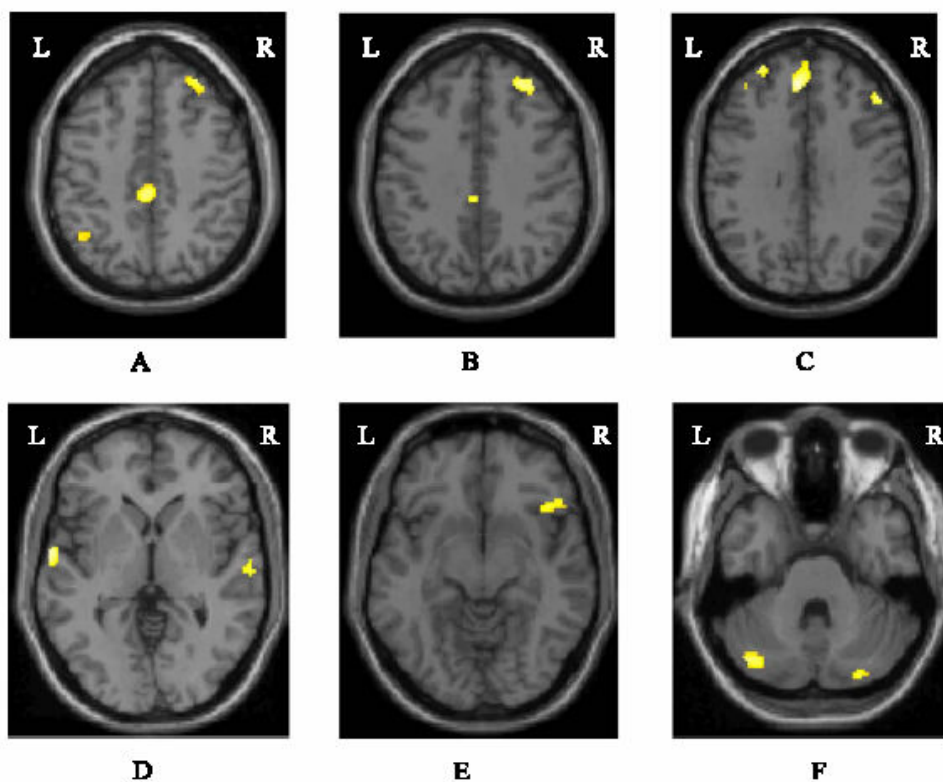


Figura 2.8 Attivazioni cerebrali in pazienti con SM durante l'esecuzione, con la mano destra, di un compito motorio complesso (manipolazione di oggetti). Il confronto tra pazienti SMRR e volontari sani ha mostrato un aumento di attivazione nelle seguenti aree: corteccia motoria cingolata anteriore (B, C) e posteriore (A, B), lobo parietale inferiore controlaterale all'arto utilizzato (A), corteccia sensori motoria secondaria bilaterale (D), giro frontale superiore bilaterale (A, C), giro frontale medio ipsilaterale (C), giro frontale inferiore (E) lobo inferiore semilunare bilaterale del cervelletto (F). Modificata da:[56].

I risultati ottenuti da Filippi e collaboratori [56] sembrano pertanto suggerire che, già a livello di esecuzione di compiti motori semplici, i pazienti con SM mostrano un maggior livello di attivazione all'interno di un circuito prevalentemente fronto-parietale solitamente attivato da soggetti neurologicamente sani durante l'esecuzione di compiti complessi. Inoltre, i risultati ottenuti durante l'esecuzione di un compito più complesso (es. manipolazione di oggetti) indicano che, in aggiunta a una maggior attivazione delle aree fronto-parietali attivate per i compiti semplici, i

pazienti con SM attivano in maniera maggiore rispetto al gruppo di controllo anche altre aree frontali solitamente implicate nella pianificazione delle azioni.

2.3 Sommario

Questa breve rassegna dei principali studi fMRI che hanno indagato le funzioni motorie nei pazienti affetti da SM (senza lesioni manifeste a carico degli arti utilizzati), sembra indicare che l'esecuzione di azioni sia semplici che complesse richieda un discreto livello di riorganizzazione corticale; esso si manifesterebbe sia attraverso l'iperattivazione di alcuni circuiti neurali sia attraverso un incremento nell'estensione e nel numero di aree attivate durante l'esecuzione dei compiti testati.). Questo incremento del numero di aree cerebrali può rappresentare la prima fase della riorganizzazione corticale, il cui scopo è il mantenimento della normalità (funzionale) nel corso della patologia. Il progressivo fallimento di tale meccanismo può, diversamente, risultare in un'attivazione di aree compensatorie 'di ordine superiore' precedentemente silenti. Tale riorganizzazione è presente fin dall'esordio della malattia demielinizzante e sembra interessare tutte le forme di SM (CIS, SMRR, SMSP).

3 Il Sistema di Osservazione dell’Azione

Una delle abilità fondamentali che ogni individuo deve sviluppare per raggiungere un buon livello di adattamento con l’ambiente - fisico e sociale- in cui vive, è senza dubbio la capacità di capire il significato delle azioni altrui. In altre parole, la capacità di riconoscere nei movimenti eseguiti dagli individui che ci circondano delle vere e proprie azioni che assumono per noi un significato. Qualora non fossimo in grado di attribuire un significato alle azioni delle altre persone, il comportamento altrui ci apparirebbe una sequenza slegata di movimenti senza senso. Se così fosse, saremmo in grado di raggiungere solo una rappresentazione sensoriale di quello che gli altri eseguono, ma non potremmo mai capire il vero significato delle loro azioni.

Ad oggi, il meccanismo che sembra mediare e supportare questo tipo di abilità è stato individuato in un complesso ed affascinante circuito neurale recentemente definito come “Sistema di Osservazione dell’Azione” [68]. Inizialmente questo sistema, che in parte si sovrappone al sistema dei ‘neuroni specchio’ [69, 70], è stato individuato nei primati non umani grazie all’uso di tecniche neurofisiologiche. Recentemente, l’avvento e la disponibilità di tecniche di *brain imaging* sempre più sofisticate ha permesso l’individuazione di questo sistema anche nell’uomo.

In questo capitolo verrà inizialmente fornita una descrizione delle caratteristiche anatomiche e funzionali di questo circuito neurale, così come è stato individuato attraverso tecniche neurofisiologiche, nei primati non umani. A tal proposito, una trattazione della letteratura neurofisiologica, che per prima ha portato alla luce l’esistenza del Sistema di Osservazione dell’Azione, risulta essere infatti fondamentale per un’adeguata interpretazione dei risultati ottenuti dallo studio di questo sistema nell’uomo. Nella seconda parte saranno quindi analizzati i risultati

ottenuti nei più recenti studi che hanno indagato i meccanismi alla base dell'osservazione dell'azione nei primati umani.

3.1 Il Sistema di Osservazione dell'Azione nei primati non umani

Agli inizi degli anni Novanta sono stati condotti numerosi studi che hanno indagato, attraverso l'utilizzo di tecniche neurofisiologiche (quali ad es. registrazioni intracellulare da singola cellula), i meccanismi neurali responsabili dell'osservazione dell'azione eseguita da un conspecifico o da uno sperimentatore nei primati non umani. Questi studi hanno indicato che la corteccia premotoria ventrale (area F5), la porzione rostrale del lobo parietale inferiore (area PF) e il solco temporale superiore (area STS) contengono neuroni che si attivano in modo selettivo in risposta all'osservazione degli atti motori altrui (Figura 1). In termini di connessioni anatomiche tra queste diverse aree, è noto che i neuroni di F5 ricevono informazioni da quelli dell'area PF [68, 71] che, a sua volta, è fortemente connessa con STS. Nonostante STS proietti ad alcune regioni della corteccia prefrontale, a loro volta connesse con F5, non proietta direttamente alla corteccia premotoria ventrale (area F5). PF, che ha connessioni sia con F5 che con STS, ha dunque un ruolo fondamentale nel processo di ritrasmissione delle informazioni elaborate da STS verso F5 [72].

Prima di considerare questo circuito nella sua globalità è importante analizzare le proprietà motorie e sensoriali delle sue componenti principali. Nei prossimi paragrafi verranno descritte le caratteristiche principali dei neuroni presenti in ciascuna delle tre aree coinvolte nel Sistema di Osservazione dell'Azione. Successivamente saranno descritti degli studi che hanno portato ad ipotizzare un possibile coinvolgimento di ulteriori aree nell'osservazione dell'azione.

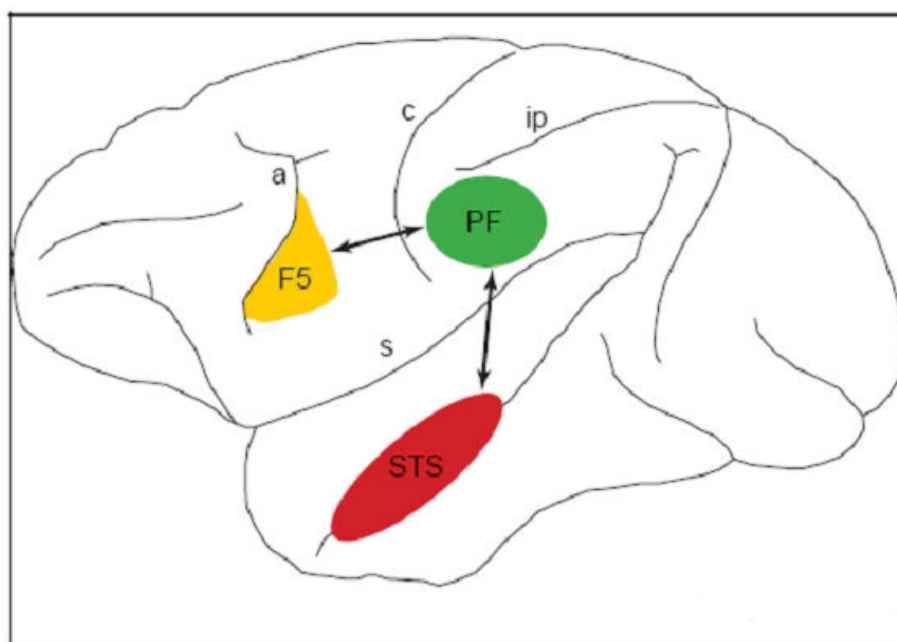


Figura 3.1 Illustrazione schematica delle tre componenti principali del Sistema di Osservazione dell’Azione, e delle loro relative connessioni, in un cervello di macaco. Corteccia premotoria ventrale (F5); porzione rostrale lobo parietale inferiore (PF); solco temporale superiore (STS). Solco arcuato (a); solco centrale (c); solco intraparietale (ip); scissura di Silvio(s). Modificata da: [73]

Le proprietà visive dei neuroni di STS

Alcuni esperimenti di neurofisiologia condotti agli inizi degli anni novanta hanno avuto come scopo quello di indagare le proprietà visive di STS nei primati non umani. In questi studi l’attività di singoli neuroni era registrata attraverso l’utilizzo di microelettrodi impiantati chirurgicamente nel corpo cellulare di alcuni neuroni di STS degli animali. In particolare, l’animale, in uno stato di veglia, osservava lo sperimentatore muovere determinate parti del corpo (per es. il tronco, il volto, gli occhi o il braccio). Al fine di garantire che l’animale mantenesse lo sguardo sullo sperimentatore, il suo movimento degli occhi era costantemente monitorato. I risultati ottenuti in questi studi hanno indicato che nella parte anteriore di STS si

trovano dei neuroni che rispondono selettivamente all'osservazione di un'ampia gamma di movimenti biologici compiuti da un altro individuo [74] si veda [75] e una rassegna). Inoltre, e' stato evidenziato che alcuni neuroni di STS rispondono a differenti azioni della mano dirette ad uno scopo, come afferrare, strappare e manipolare oggetti [74, 76, 77] In particolare, queste cellule sembrano essere sensibili alla forma assunta dalla mano durante l'esecuzione di una data azione, mentre non rispondono qualora alla mano che interagisce con l'oggetto venga sostituito uno strumento (per es. una pinza).

Riassumendo, dai principali studi presenti nella letteratura sull'argomento e' emerso che i neuroni presenti in STS hanno esclusivamente proprietà visive, cioè rispondono solo all'osservazione di movimenti biologici eseguiti da altri individui, mentre sembrano non essere coinvolti durante l'esecuzione dell'azione [73]. Alla luce di ciò, è stato suggerito che i neuroni di STS rappresentino il primo passo di un percorso in grado di portare alla comprensione del significato delle azioni altrui. Le informazioni visive acquisite durante l'osservazione di movimenti biologici vengono infatti elaborate, in prima istanza, in aree corticali visive primarie dove avviene una prima analisi delle caratteristiche degli stimoli osservati. Queste informazioni vengono poi ritrasmesse alla porzione anteriore di STS dove la codifica visiva delle azioni raggiunge livelli di complessità molto elevati. L'informazione contenuta in STS viene ritrasmessa a PF e da qui a F5. Queste aree, i cui neuroni hanno sia proprietà visive che motorie (cioè rispondono sia durante l'osservazione che durante l'esecuzione di un'azione), rappresentano l'ultima stazione del processo di elaborazione che permette la coordinazione tra le informazioni visive veicolate da STS e la conoscenza motoria (o vocabolario motorio) derivata dalle proprietà motorie di queste stesse aree)

Le proprietà visuo-motorie dei neuroni di F5 e di PF

Nei primissimi anni Novanta un esperimento chiave condotto con tecniche di registrazione elettrofisiologica su alcuni neuroni dell'area F5 della scimmia macaca ha portato a dimostrare che queste cellule, oggi meglio conosciute come neuroni a specchio, hanno delle proprietà visuo-[78]motorie particolarissime [69]. I risultati di questo esperimento, in cui la scimmia doveva sia eseguire che osservare delle azioni dirette verso un oggetto (cioè transitive), hanno indicato che, in termini di proprietà motorie, questi neuroni sono simili ai classici neuroni premotori di F5 (i.e., Rizzolatti et al., 1988 [78]) dato che rispondono sia durante l'esecuzione di semplici movimenti che durante l'esecuzione di veri e propri atti motori (es. movimenti di raggiungimento-prensione; Figura 3a). Di maggiore interesse sono stati invece i risultati relativi alle proprietà visive di questi neuroni che hanno dimostrato una consistente risposta di queste cellule durante l'osservazione da parte della scimmia di azioni che comportano l'interazione tra un effettore biologico (ma non uno strumento; Figura 3b) quale la mano ed un oggetto ([69], Figura 3a). È importante sottolineare che la risposta visiva dei neuroni di F5 nella fase di osservazione dell'azione risulta però essere confinata a situazioni in cui l'azione osservata è transitiva (rivolta cioè verso un oggetto). Questi neuroni non sembrano, infatti, rispondere all'osservazione di azioni mimate o intransitive eseguite da uno sperimentatore, come ad esempio il movimento delle braccia eseguito per eccitare l'animale.

Neuroni specchio dalle stesse proprietà funzionali rispetto a quelli individuati nella corteccia premotoria ventrale della scimmia (area F5) sono stati trovati anche nella porzione rostrale della corteccia parietale inferiore (area PF/PFG). Agli inizi

degli anni ottanta, si era già a conoscenza del fatto che una buona parte dei neuroni parietali appartenenti a questo complesso (PF/PFG) rispondesse sia a stimoli sensoriali che durante l'esecuzione di atti motori [72]. Dopo la scoperta dei neuroni visuo-motori di F5, però, Fogassi e collaboratori (1998; vedi anche [79]) hanno dimostrato che più del 70% dei neuroni parietali con proprietà visive rispondono quando la scimmia esegue o osserva azioni transitive effettuate con la mano o con la bocca. I neuroni del complesso PF/PFG mostrano quindi proprietà visuo-motorie simili rispetto a quelli di F5 rispondendo sia a stimoli visivi (es. la vista di un'azione di raggiungimento-prensione) sia durante l'esecuzione di un movimento che implichi interazione tra la mano e un oggetto.

Riassumendo, questi neuroni hanno proprietà sia motorie che visive in quanto mostrano una robusta attività elettrica sia quando la scimmia svolge una determinata azione transitiva sia quando osserva un altro individuo (sperimentatore o conspecifico) compiere una simile azione. In altre parole, l'azione osservata è in qualche modo riflessa (ecco perché sono stati chiamati neuroni specchio) nella rappresentazione motoria, nel vocabolario degli atti motori dell'animale che osserva. Una delle sfide più importanti che i ricercatori hanno dovuto affrontare in seguito a questa scoperta è stata quella di fare luce sul possibile ruolo funzionale ricoperto dai neuroni a specchio. Dopo aver scartato la possibilità che questi neuroni siano soltanto una particolare categoria di neuroni preparatori diffusi nella corteccia premotoria [70], è stato proposto che essi siano alla base del riconoscimento e della comprensione del significato degli atti motori altrui [69]. La risposta dei neuroni a specchio durante l'osservazione delle azioni è stata interpretata come la base neurale del saper riconoscere, nella sequenza di movimenti osservati, un determinato tipo di

atto (es. l'azione di afferrare), del saper differenziare il tipo di azione osservata da altri riconoscendola come un atto facente parte del proprio vocabolario motorio.

Pertanto, alla luce delle caratteristiche di queste cellule nervose sembra ragionevole concludere che i neuroni specchio rappresentino senza dubbio una delle più robuste evidenze sperimentali in favore dell'esistenza di un sistema sotteso all'osservazione /esecuzione dell'azione.

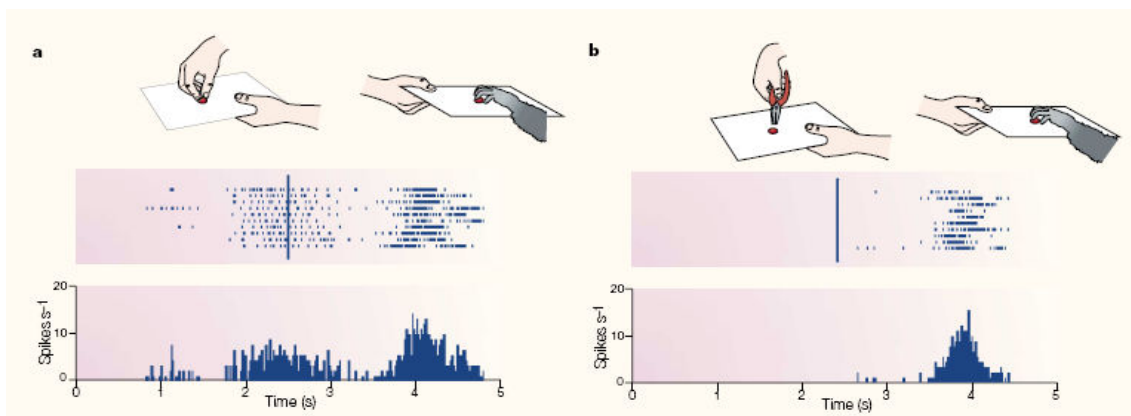


Figura 3.2 Risposta visiva e motoria di un neurone specchio in area F5. **a)** un pezzo di cibo è posto su un cartoncino e viene presentato alla scimmia. Robusta attività è presente in alcuni neuroni di F5 sia durante la prensione del cibo da parte dello sperimentatore sia durante l'esecuzione di una medesima azione da parte della scimmia registrata. **b)** da notare l'assenza di attività neurale quando l'azione osservata viene eseguita dallo sperimentatore utilizzando uno strumento (pinza) invece della mano. Modificata da: Rizzolatti et al., 2001.

Il ruolo di aree motorie e somatosensoriali nell'osservazione dell'azione

Studi recenti [80] hanno fornito consistenti evidenze che sembrano dimostrare che, in aggiunta a F5, PF e STS, altre aree quali la corteccia motoria (F1) e la corteccia somatosensoriale primaria (SI) sembrano essere una parte integrante del sistema di osservazione dell'azione. Tali risultati sembrano suggerire che le azioni, insieme alle loro componenti propriocettive, vengono immagazzinate come rappresentazioni motorie e somatosensoriali le quali verrebbero poi richiamate o riattivate durante l'osservazione dell'azione.

3.2 Il Sistema di Osservazione dell'Azione nell'uomo

Dalla breve rassegna della letteratura neurofisiologica condotta sui primati non umani è emerso che tre regioni corticali, STS, F5 e PF [73] sembrano essere coinvolte nell'elaborazione visiva di movimenti biologici quali l'interazione tra un effettore biologico ed un oggetto. Mentre STS risponde solamente durante l'osservazione di atti motori altrui, F5 e PF sono caratterizzate da proprietà sia visive che motorie che consentono a questo sistema di aree (F5 e PF) di appaiare l'azione osservata (proprietà visive) con la sua rappresentazione motoria (proprietà motorie) indicando come questo circuito neurale sia coinvolto non solo nell'osservazione ma anche nella comprensione dell'azione.

La scoperta di questo complesso ed affascinante Sistema di Osservazione dell'Azione (STS, F5 e PF), unico nelle sue proprietà funzionali, ha ovviamente innescato una serie di ricerche sperimentali mirate ad individuare un simile circuito neurale nell'uomo. Le neuroimmagini funzionali quali la Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) e la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) sono state tra le più utilizzate per lo studio delle basi neurali sottostanti l'osservazione dell'azione nell'uomo. Queste tecniche permettono infatti, di misurare, seppur indirettamente, l'attività neurale dell'intero volume cerebrale rendendole estremamente utili quando si vuole avere un quadro generale dell'attivazione cerebrale prodotta dalla presentazione di un dato stimolo o una data situazione sperimentale.

Negli ultimi anni numerosi studi sono stati condotti al fine di verificare la presenza di un sistema neurale deputato all'osservazione dell'azione anche nel [81] cervello umano. A tale scopo sono state utilizzate differenti metodologie quali la PET (i.e. [82].[83]; [82] ; Tay et al., 2004), la fMRI (i.e. , [65] [84]; [85]), la

magneto-elettroencefalografia (MEG; e.g. [86]; [87]), i potenziali evento-relati (ERP; e.g. [88]) e la stimolazione magnetica transcranica (TMS; e.g.; [89] [90] [91]). Gli studi sopraelencati sembrano fornire consistenti evidenze in favore dell'esistenza di tale sistema anche nell'uomo.

Le seguenti pagine sono state prevalentemente dedicate ad una dettagliata descrizione degli studi di neuroimmagine condotti con tecniche fMRI e PET dato che sono quelli che più di altri hanno consentito un'accurata localizzazione delle aree corticali coinvolte durante l'osservazione dell'azione ed in particolare durante l'osservazione di interazioni mano-oggetto.

Localizzazione delle aree coinvolte nell'osservazione dell'azione

Nonostante il primissimo tentativo fatto per individuare le aree deputate all'osservazione delle azioni di raggiungimento-prensione non abbia dato i risultati sperati (forse a causa degli stimoli virtuali e non reali che vennero adottati; Decety et al., 1994) , una serie di altri studi condotti successivamente ha indicato come l'osservazione di movimenti di raggiungimento-prensione produca significative attivazioni all'interno di un circuito di aree molto simile a quello individuato nei primati non umani ([82, 92]; [83]). In particolare, le attivazioni sono state riportate nel lobo parietale inferiore (area 40 di Brodmann considerata l'area omologa di PF), nella 'pars opercularis' del giro frontale inferiore (area 44 di Brodmann considerata l'area omologa di F5) in vari settori del solco temporale superiore (area 22 di Brodmann) e, infine, anche nel giro precentrale a livello della corteccia premotoria ventrale e dorsale.

Una delle critiche più sostanziali avanzate nei confronti di questi risultati, specialmente quelli riportati per l'area 44 di Brodmann, nota anche come area di

Broca, e responsabile del controllo dei movimenti della bocca legati alla produzione del linguaggio, riguarda una possibile interpretazione alternativa del pattern di attivazione riscontrato in quest'area durante l'osservazione di interazioni mano-oggetto. È stato infatti proposto che l'attivazione di questa regione corticale potrebbe riflettere una rappresentazione verbale interna, una sorta di descrizione mentale di ciò che i soggetti osservano durante l'acquisizione delle immagini fMRI. In altre parole, l'attivazione del giro frontale inferiore potrebbe essere determinata, in fase di osservazione dell'azione, da una ripetizione mentale interna del tipo "quella mano afferra quel dato oggetto". Per scartare quest'ipotesi alternativa Buccino e collaboratori ([65]) hanno condotto un importante esperimento in cui l'effettore biologico usato dal modello umano per compiere azioni transitive (su di un oggetto) o intransitive (mimate senza oggetto) veniva sistematicamente manipolato. I soggetti sperimentali osservavano quindi interazioni mano-oggetto, bocca-oggetto, o piede-oggetto. Se l'attivazione in aree premotorie ventrali (area di Brodmann 44) fosse dovuta a una rappresentazione verbale interna dell'azione osservata, allora la manipolazione sull'effettore biologico non avrebbe dovuto produrre alcun effetto sui pattern di attivazione cerebrale. In termini di azioni transitive, i risultati di questo esperimento non solo hanno indicato attivazioni premotorie e parietali durante l'osservazione di interazioni effettore biologico-oggetto, ma hanno anche dimostrato che queste attivazioni sono sensibilmente modulate dal tipo di effettore utilizzato suggerendo l'esistenza di una sorta di organizzazione somatotopica effettore dipendente (Figura 3.3).

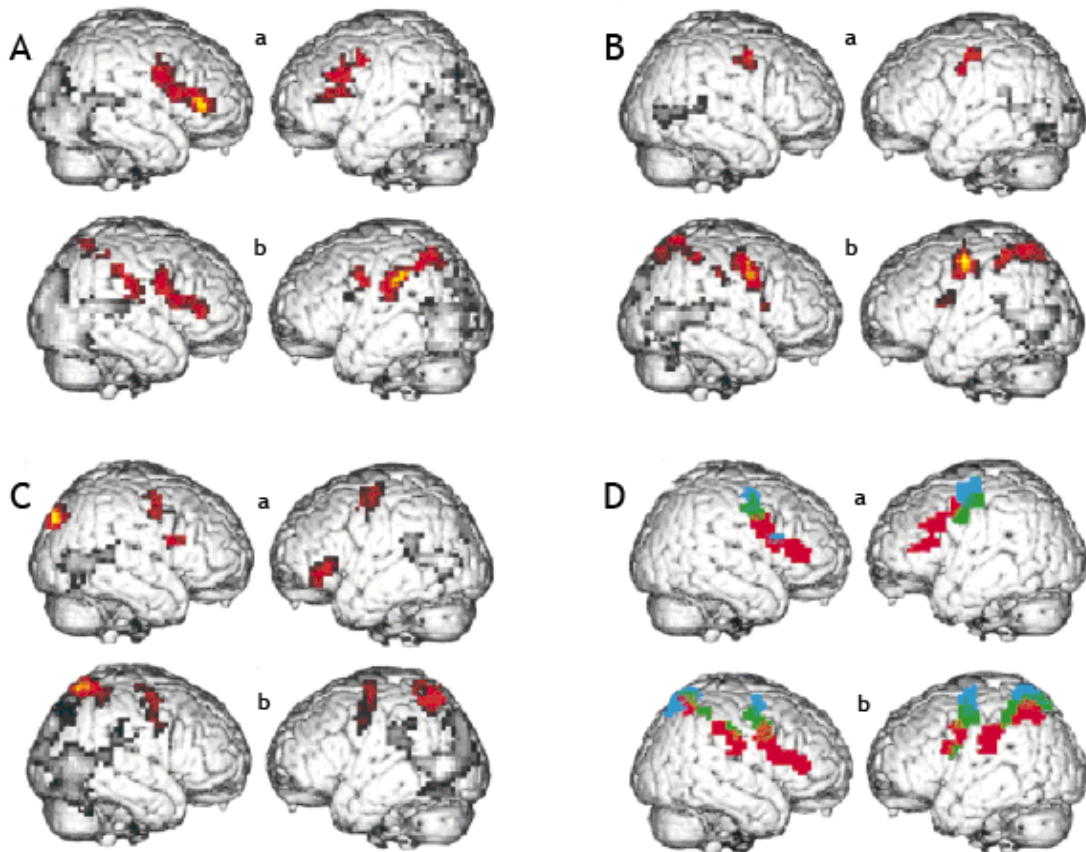


Figura 3.3 A) attivazioni corticali riportate durante l'osservazione di azioni intransitive (a) e transitive (b) compiute con la bocca. B) attivazioni corticali riportate durante l'osservazione di azioni intransitive (a) e transitive (b) compiute con la mano. C) attivazioni corticali riportate durante l'osservazione di azioni intransitive (a) e transitive (b) compiute con il piede. D) la sovrapposizione sul medesimo template di riferimento delle attivazioni corticali riportate durante l'osservazione di azioni transitive compiute con la bocca (colore rosso), la mano (colore verde), ed il piede (colore blu) indica l'esistenza di una sorta di organizzazione somatotopica effettore dipendente. Tutte le mappe di attivazione nei pannelli A, B, C e D sono state sovrapposte sul *template* standard del cervello MNI (Montreal Neurological Institute). Modificata da:[65].

Questo studio ha permesso dunque di escludere l'ipotesi della rappresentazione verbale interna dimostrando in maniera convincente che l'attivazione della corteccia premotoria ventrale nell'uomo (in particolar modo dell'area 44 di Brodmann) durante l'osservazione dell'azione sia paragonabile alla risposta dei neuroni di F5 descritta nella precedente sezione di questo capitolo. Questo lavoro è stato inoltre fondamentale nel delineare alcune differenze tra i risultati ottenuti relativamente a questo sistema neurale nei primati non-umani e nell'uomo. In primo luogo, l'attivazione di questo circuito o almeno di una buona parte di esso (aree premotorie

e parietali), non si limita, come nella scimmia all'osservazione di azioni transitive, ma si estende anche all'osservazione di azioni mimate senza l'oggetto. In secondo luogo, questo circuito appare più esteso nell'uomo rispetto alla scimmia nonostante questa differenza possa essere in gran parte spiegata in base alle differenti tecniche utilizzate. Le tecniche elettrofisiologiche utilizzate negli studi sui primati non umani non permettono infatti una registrazione dall'intero cervello come consentito dalle neuroimmagini funzionali, limitando enormemente la possibilità di monitorare simultaneamente l'attività dell'intera corteccia.

Più recentemente Pelphrey e collaboratori ([93]) hanno condotto un esperimento fMRI di osservazione dell'azione volto ad indagare se, anche nel solco temporale superiore (STS), vi sia una rappresentazione somatotopica di azioni osservate eseguite con differenti effettori biologici: gli occhi, la bocca, e la mano. In linea con i dati riportati per la corteccia premotoria ventrale e quella parietale ([65]) i risultati di questo studio hanno indicato che differenti settori di STS codificano movimenti biologici in un modo dipendente dall'effettore biologico utilizzato.

I risultati riportati dai principali studi condotti sull'uomo sembrano pertanto ampiamente supportare l'esistenza di un Sistema di Osservazione dell'Azione con caratteristiche simili a quello descritto nei primati non umani composto principalmente da tre aree: il solco temporale superiore, il lobo parietale inferiore e la corteccia premotoria (ventrale e dorsale).

Altre aree coinvolte nell'osservazione dell'azione

Il coinvolgimento di altre aree nell'osservazione dell'azione è stato dimostrato da studi MEG che hanno evidenziato il coinvolgimento della corteccia motoria primaria e delle aree somatosensoriali durante l'osservazione di azioni altrui ([86]; [87] [94]).

Sebbene l'attivazione di queste regioni cerebrali non sia stata riscontrata negli studi PET e fMRI precedentemente descritti, il coinvolgimento di aree motorie e somatosensoriali nell'osservazione dell'azione sembra essere in linea con alcune evidenze sperimentali riportate in studi di neurofisiologia condotti sui primati non-umani (i.e.[80]).

3.3 Sommario

Studi di neurofisiologia condotti su primati non umani e studi di neuroimmagine condotti sull'uomo convergono nel dimostrare l'esistenza di un circuito neurale (il Sistema di Osservazione dell'Azione) deputato all'osservazione delle azioni (es. interazioni mano-oggetto) compiute da altri individui. Questo sistema è formato da aree premotorie ventrali (F5 nei primati non umani e giro frontale inferiore nell'uomo), da aree parietali (PF nei primati non umani e lobo parietale inferiore nell'uomo) e dal solco temporale superiore (STS nei primati non umani e solco/giro temporale superiore nell'uomo).

4 Plasticità corticale nella sclerosi multipla all'esordio clinico: studio dell'osservazione dell'azione con risonanza magnetica funzionale

Esiste largo consenso nel ritenere che la severità delle manifestazioni cliniche della SM sia l'esito di un complesso equilibrio tra il danno tessutale, i processi di riparazione (re-mielinizzazione) e di riorganizzazione corticale ([27] [52] [53]). Studi fMRI hanno evidenziato un possibile ruolo della plasticità corticale nel limitare le manifestazioni cliniche della SM. Il riscontro di una riorganizzazione corticale precoce durante l'esecuzione di azioni (per es. flessione ed estensione delle dita della mano destra o opposizione del pollice della mano destra con le rimanenti quattro dita della mano) in assenza di evidenti deficit motori sembra confermare tale ruolo [56]. Inoltre, sono state riscontrate alterazioni nel reclutamento di alcune regioni cerebrali normalmente deputate all'esecuzione di un dato compito, o il reclutamento di aree addizionali, normalmente non attivate nei volontari sani per lo svolgimento dello stesso compito [27]. Sulla base di tali riscontri si è ipotizzato che l'incremento dell'attivazione cerebrale a livello dei *networks* neurali normalmente coinvolti nello svolgimento di un dato compito possa rappresentare il primo passo nella riorganizzazione corticale finalizzata al mantenimento della normalità funzionale. È stato ipotizzato che il progressivo esaurimento di questo meccanismo compensatorio si traduca nell'attivazione di aree compensatorie "di secondo ordine" precedentemente silenti, e, successivamente, contribuisca alle manifestazioni cliniche della patologia [27].

Gli studi fMRI condotti su pazienti con nella SM, tuttavia, si sono focalizzati esclusivamente sull'indagine delle attivazioni corticali durante l'esecuzione di azioni semplici. Un aspetto del controllo motorio non ancora esplorato è quello relativo alla possibilità che i problemi motori non siano solo espressione di una selettiva

compromissione dell'*esecuzione dell'azione*, ma anche di un'eventuale compromissione della *comprensione di azioni osservate*.

Come precedentemente descritto, studi di neurofisiologia sui primati non umani e di *brain imaging* (PET, fMRI; MEG) sull'uomo, hanno descritto un complesso circuito neurale, definito "Sistema di Osservazione dell'azione", ritenuto implicato nella comprensione delle azioni osservate. Nell'uomo, tale sistema si compone principalmente di tre aree: il solco temporale superiore, il lobo parietale inferiore e la corteccia premotoria (ventrale e dorsale). Nel solco temporale superiore sono presenti neuroni che rispondono esclusivamente all'osservazione di movimenti eseguiti da altri individui (proprietà visive), mentre nel lobo parietale e nella corteccia premotoria si trovano neuroni con proprietà sia visive sia motorie, che rispondono non solo durante l'esecuzione, ma anche durante l'osservazione dell'azione (es. interazione mano-oggetto). Il principale ruolo attribuito al "Sistema di Osservazione dell'azione" è la comprensione del significato delle azioni altrui, abilità indispensabile per un adeguato adattamento dell'uomo al proprio ambiente, fisico e sociale.

Le attuali conoscenze circa il ruolo e la precisa localizzazione dei circuiti neurali sottostanti il "Sistema di Osservazione dell'azione" derivano, quasi esclusivamente, da studi condotti su individui sani. A quanto ci è dato conoscere nessuno studio è stato effettuato per valutare le eventuali proprietà adattive di questo sistema in patologie del SNC, fatta eccezione per gli studi sull'autismo. Si ritiene che le anomalie di attivazione corticale osservate nei pazienti con SM durante l'esecuzione di compiti motori, riflettano la presenza di meccanismi *funzionali* adattativi che arginano l'impatto dei danni *strutturali* sulla progressione clinica della malattia e sulla disabilità. Tali meccanismi compensatori, acquistano ancor più

valore se si considera che tecniche non convenzionali di risonanza morfologica, hanno evidenziato un *precoce* danno corticale (atrofia e lesioni corticali infiammatorie) nella SM [95, 96], spesso già presente all'esordio clinico.

Lo scopo primario del presente studio è stato quello di individuare eventuali differenze di attivazione neuronale corticale tra pazienti con SM all'esordio clinico e soggetti normali di controllo in risposta all'osservazione di azioni (eseguite con la mano). In altre parole, ci siamo proposti di valutare se fossero presenti alterazioni funzionali (aumento nelle attivazioni o reclutamento di aree addizionali) precoci non solo in fase di esecuzione ma anche in fase di osservazione dell'azione.

4.1 Materiali e metodi

Il presente studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera di Padova. I partecipanti che hanno preso parte allo studio hanno firmato un consenso informato dopo un'adeguata presentazione degli obiettivi e delle indagini previste dalla sperimentazione (esame neurologico, valutazione neuropsicologica e acquisizione fMRI). Due gruppi di soggetti, uno sperimentale e uno di controllo hanno preso parte alla sperimentazione.

Pazienti (gruppo sperimentale)

Il gruppo consta di 12 pazienti afferenti al nostro Centro Regionale di riferimento per la Sclerosi Multipla (7 femmine e 5 maschi di età media pari a $30 \pm 7,9$ anni; range 19-44), affetti da malattia infiammatoria demielinizzante (10 da SMRR e 2 da

“possibile SM” in accordo con i criteri di Mc Donald [44], con una durata media di malattia di 17,25±9,5 mesi (range 3-34). Il punteggio medio di disabilità, valutato attraverso l’Expanded Disability Status Scale di Kurtzke (EDSS), era di 1,6±0,6 (range 1-3, mediana 1,5). In tabella 4.1 sono riportati i sistemi funzionali e il punteggio dell’EDSS di ciascun paziente.

Sette pazienti erano trattati con farmaci immunomodulanti per la prevenzione delle ricadute cliniche (sette assumevano interferone beta [IFN-β-1a] e uno interferone beta [IFN-β-1b]). Dei rimanenti quattro pazienti, uno aveva per qualche mese assunto il glatiramer acetato (COP-1), gli altri tre erano in attesa di terapia immunomodulante.

<i>EXPANDED DISABILITY STATUS SCALE E SISTEMI FUNZIONALI</i>								
Pz	Piramidale	Sensitivo	Visivo	Tronco encefalico	Cerebellare	Sfinterico	Cerebrale	EDSS Totale*
1	1	1	0	0	0	0	0	1.5
2	1	1	0	0	0	0	0	1.5
3	1	0	1	0	1	0	0	1.5
4	1	0	0	0	0	0	0	1
5	2	0	1	1	0	0	0	2
6	1	1	1	0	0	0	0	1.5
7	3	2	0	0	0	0	0	3
8	2	0	0	0	0	0	0	2
9	1	0	0	0	0	0	0	1
10	1	0	0	0	0	0	0	1
11	0	2	1	0	0	0	0	2
12	1	0	0	0	0	0	0	1

TABELLA 4.1 Punteggio EDSS dei pazienti arruolati. * Nessun paziente presentava significative limitazioni nella deambulazione tranne il paziente 7 che presentava una minima limitazione

A completamento dell’esame neurologico ogni paziente è stato sottoposto a Nine-Hole-Peg-Test, parte della batteria Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC), per la valutazione della destrezza manuale nei pazienti con SM. I risultati di questo test sono riportati nella Tabella 4.2.

PAZIENTE	RISULTATO		VALORI DI RIFERIMENTO PER ETA' E SEX	
	Mano DX	Mano SN	Mano DX	Mano SN
1	20"; 18"	21.8"; 17.1"	16.74"(1.95)	18.16"(2.08)
2	17"; 18.5"	18.3"; 17.4"	16.41"(1.45)	17.53"(1.73)
3	16.8"; 13.8"	17.7"; 18"	16.41"(1.45)	17.53"(1.73)
4	17.4"; 20"	17.2"; 16"	16.04"(1.82)	17.21"(1.55)
5	24"; 21"	24"; 21"	17.54"(2.70)	18.47"(2.94)
6	20.6"; 17.9"	18.4"; 19.4"	15.90"(1.91)	16.97"(1.77)
7	20.5"; 17.1"	21.6"; 17.3"	16.74"(1.95)	18.16"(2.08)
8	17.4"; 20"	17.2"; 16"	15.90"(1.91)	16.97"(1.77)
9	26.2"; 23.6"	24.2"; 21.1"	16.04"(1.82)	17.21"(1.55)
10	19.5"; 16.3"	18"; 20.1"	16.54"(2.14)	17.64"(2.06)
11	15.9"; 17.9"	19.8"; 14.8"	16.04"(1.82)	17.21"(1.55)
12	19.2"; 16.9"	15.7"; 18.8"	16.41"(1.45)	17.53"(1.73)

TABELLA 4.2 Tempo impiegato dai pazienti per l'esecuzione del Nine-Hole-Peg-Test dai pazienti e relativi valori normativi (Oxford Grice et al., 2003)

I pazienti dovevano inoltre soddisfare i seguenti criteri di inclusione:

- età compresa tra 18 e 50 anni;
- durata di malattia inferiore o uguale a 36 mesi;
- dominanza manuale destra;
- acuità visiva normale o corretta con lenti a contatto;
- disabilità, espressa attraverso l'Expanded Disability Status Scale di Kurtzke (EDSS), inferiore o uguale a 3,5;
- assenza di ricadute cliniche da almeno due mesi;
- nessun trattamento con corticosteroidi nel mese precedente lo studio;
- assenza di deterioramento cognitivo definito da almeno tre punteggi inferiori a 2 deviazioni standard nei sub-test presenti nella Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRBNT)

Volontari sani (Gruppo di controllo)

Il gruppo di controllo è composto da 15 individui adulti sani, con anamnesi negativa per patologie neurologiche, destrimani e con acuità visiva normale o corretta con lenti a contatto. L'età media del gruppo di controllo è di $35\pm 8,8$ anni (range 24-58 anni).

Valutazione neuropsicologica

Nella fase iniziale dello studio i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione di screening delle funzioni cognitive per escludere la presenza di deterioramento che potesse inficiare la performance del compito durante l'fMRI. L'esame ha previsto la somministrazione della Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRBNT) nota anche come Batteria di Rao, messa a punto dal gruppo di studio sulle funzioni cognitive della National Multiple Sclerosis Society, specificatamente per essere impiegata sia come misura di *outcome* nelle sperimentazioni cliniche controllate, che come batteria di screening. La BRBNT si compone dei seguenti test:

- Selective Reminding Test (SRT e SRT-R) per la valutazione dell'apprendimento, la memoria verbale e la rievocazione differita a lungo termine.
- Il 10/36 Spazial Recall Test (10/36 SRT) atto all'apprezzamento della memoria visuo-spaziale e alla rievocazione differita della stessa.
- Il Symbol Digit Modalities Test (SDMT) per l'attenzione sostenuta.
- Il Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) un test per la valutazione dell'attenzione sostenuta e la velocità di elaborazione dell'informazione.
- Il Word List Generation (WLG), un test di fluency verbale, fonemica o semantica.

Dal punteggio grezzo dei test (PG), è stato calcolato il punteggio corretto (PC) per minimizzare la variabile “scolarità” sulle prestazioni cognitive. Il punteggio di ciascun paziente è stato confrontato con i valori normativi di riferimento (Amato et al., 2006). Nessun paziente presenta deterioramento cognitivo. In Tabella 4.3 sono riportati i valori medi ottenuti dai 12 pazienti in ogni sub-test della BRBNT e i relativi valori normativi di riferimento (Amato et al., 2006).

<i>BRIEF REPEATABLE BATTERY OF NEUROPSYCHOLOGICAL TEST (VERSION A)</i>			
Test	Punteggio medio corretto gruppo sperimentale	Punteggio medio corretto valori normativi	5° Percentile
SRT-LTS	52.4 (8.7)	47.5 (13.1)	23.3
SRT-CLTR	44.7 (8.2)	40.3 (14.4)	15.5
SPART	25.1 (2.8)	20.9 (4.9)	12.7
SDMT	60.7 (9.1)	50.9 (9.4)	37.9
PASAT-3	43.6 (10.8)	45.0 (10.6)	28.4
SRT-D	9.8 (1.5)	8.9 (2.2)	4.9
SPART-D	9.2 (1.1)	7.2 (2.4)	3.6
WLG semantico	22.3 (4.0)	26.1 (5.8)	17.0
Fluenza fonemica *	13,9 (2,7) 16,68 (3,91)	11,96 (3,12) scolarità ≤ 8 anni 16,68 (3,91) scolarità ≥ 9 anni	

TABELLA 4.3 Punteggi medi corretti dei test della BRBNT ottenuti dal gruppo di pazienti con SM e relative valori normative di riferimento. SRT-LTS, Selective Reminding Test Long Term Storage; SRT-CLTR, Selective Reminding Test-Consistent Long Term Retrieval; SRT-D, Selective Reminding Test-Delayed; SPART, Spazial Recall Test; SPART-D, Spazial Recall Test-Delayed; SDMT, Symbol Digit Modalities Test; PASAT-3, Paced Auditory Serial Addition Test- 3 secondi; WLG, Word List Generation. (Valori normativi in Amato et al., 2006; * valori normativi in Mondini et al., 2003)

Al termine della valutazione neuropsicologica, i pazienti hanno compilato il Beck Depression Inventory (BDI), un questionario strutturato di auto-valutazione per lo screening dei disturbi dell’umore. Il BDI si compone di 21 gruppi di dichiarazioni, ciascuno comprendente 4 alternative di risposta. Si chiede al paziente di scegliere, per ogni gruppo di affermazioni, quale tra le 4 alternative proposte rispecchia la propria situazione. Il punteggio, per ogni gruppo di dichiarazione, è compreso tra 0 e 4. Punteggi al BDI superiori a 18 richiedono un approfondimento diagnostico per

possibile presenza di disturbi dell'umore. Disturbi depressivi, siano essi di origine reattiva o organica, sono piuttosto frequenti nei pazienti con SM, e la loro presenza può influenzare le prestazioni cognitive (rallentamento delle funzioni attentive, difficoltà di apprendimento e di rievocazione mnestica). Il punteggio medio riportato dai pazienti nel BDI è stato di $1,27 \pm 1,22$ (range 2-7). Nessun paziente presentava disturbo depressivo.

Caratteristiche degli stimoli e disegno sperimentale

Stimoli. Durante l'acquisizione fMRI, i partecipanti dovevano semplicemente osservare delle fotografie digitali in bianco e nero (durata 1200 msec) raffiguranti la mano di un modello umano che poteva afferrare un oggetto (Figura 4.1A) oppure restare immobile su di una superficie al fianco di un oggetto (Figura 4.1B).

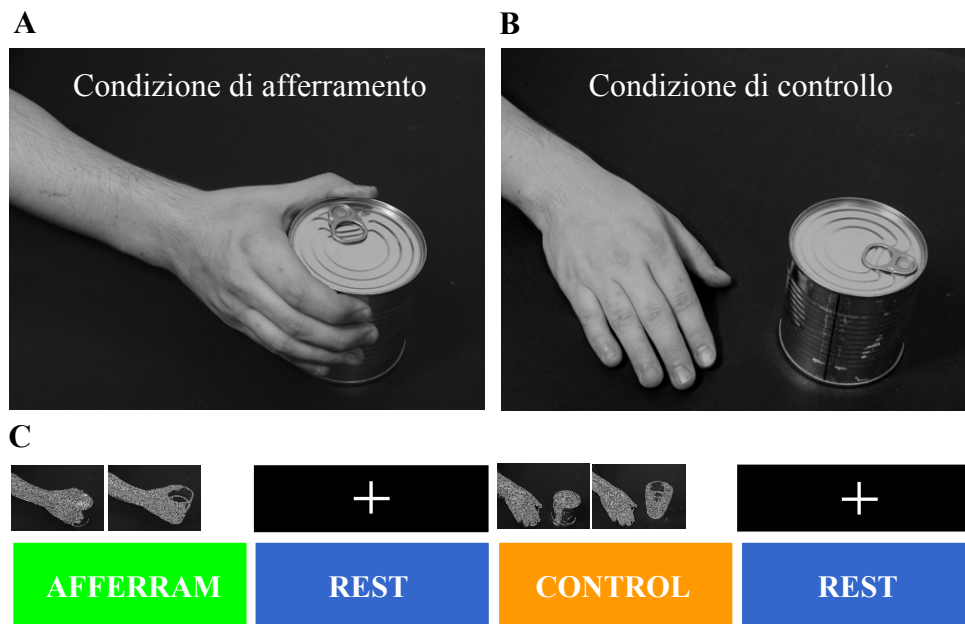


Figura 4.1 Esempio di stimoli utilizzati per implementare le condizioni sperimentali: condizione di afferramento (A) e condizione di controllo (B). Rappresentazione schematica del disegno sperimentale a blocchi implementato nel presente studio (C).

Le fotografie venivano proiettate su di uno schermo (Figura 4.2A) posto ai piedi del lettino di risonanza ed erano visibili su di un piccolo specchio direttamente montato sulla bobina utilizzata per RM dell'encefalo (Figura 4.2B). Al fine di evitare effetti di "abituazione" dovuti alla ripetuta presentazione del medesimo stimolo abbiamo utilizzato 22 oggetti diversi: 11 grandi che venivano afferrati dalla mano del modello con una prensione a tutta mano (opposizione del pollice alle restanti dita) e 11 piccoli che venivano afferrati con una prensione di precisione (opposizione di pollice e indice).

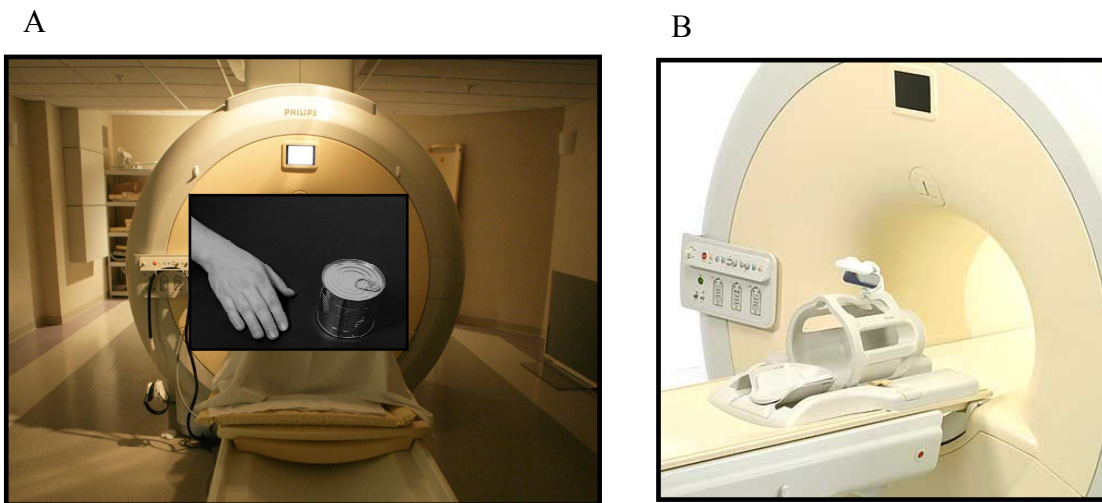


Figura 4.2 Pannello A: scanner RM utilizzato nella presente ricerca per l'acquisizione delle immagini MR sia funzionali che strutturali. Il riquadro semitrasparente al centro mostra una rappresentazione schematica dello schermo a retroproiezione utilizzato per la presentazione degli stimoli durante l'acquisizione delle immagini fMRI. Pannello B: immagine della bobina e dello specchio utilizzato dai soggetti per visualizzare gli stimoli proiettati sullo schermo.

Disegno sperimentale. Per la presentazione degli stimoli abbiamo utilizzato un disegno a blocchi in cui sono state implementate due condizioni sperimentali. 1) Condizione di *afferramento*: una mano afferra un oggetto; 2) Condizione di *controllo*: una mano aperta con il dorso rivolto verso l'alto posta di fianco ad un oggetto. I blocchi erano della durata di 15 secondi. All'interno di ciascun blocco sperimentale venivano presentate 11 fotografie della durata di 1200 msec separate tra loro da un intervallo di 180 msec. I blocchi sperimentali erano intervallati con

blocchi di *rest* in cui i soggetti osservavano uno schermo nero con una croce bianca di fissazione presentata al centro dello schermo (Figura 4.1C). L'acquisizione fMRI era divisa in quattro sessioni sperimentali della durata di circa 4 minuti ciascuna. Per mantenere alto il livello di attenzione durante l'acquisizione fMRI i partecipanti (pazienti e controlli) erano istruiti a svolgere un semplice compito. All'inizio di ogni sessione sperimentale lo sperimentatore indicava ai soggetti due oggetti target (es., barattolo di latta e bottone). Il compito era quello di riportare via interfono, alla fine della sessione, il numero complessivo di oggetti target visti durante la sessione sperimentale, indipendentemente dal tipo di interazione mano-oggetto osservata (afferramento o controllo).

Acquisizione immagini fMRI. Per l'acquisizione delle immagini di risonanza magnetica (funzionali e strutturali) abbiamo utilizzato uno scanner a 1.5T (Philips, Achieva). Per ogni soggetto sono stati acquisiti 500 volumi standard EPI (Echo Planar Imaging) in 4 sessioni da 125 volumi ciascuna. È stata utilizzata una sequenza *single shot* eco-planare pesata in T2* con le seguenti specifiche: matrice 64x64, FOV = 224 x 224 mm², flip angle = 90°, 32 fette assiali con spessore 3.5mm e 0.5 mm gap, Repetition Time (TR) = 3 sec, Echo Time (TE) = 50 msec. La sessione di risonanza prevedeva inoltre l'acquisizione di immagini strutturali dell'intero encefalo (si veda la sezione 'acquisizione immagini MRI strutturali' per i dettagli sulle sequenze utilizzate). Durante l'acquisizione delle immagini funzionali i partecipanti dovevano osservare le foto presentate facendo attenzione a non eseguire nessun tipo di movimento della testa o di altre parti del corpo.

Acquisizione immagini MRI strutturali. Sono state acquisite le seguenti immagini:

1. 3D Fast Field Echo (3D-FFE): innovative sequenze volumetriche assiali che permettono la ricostruzione tridimensionale delle immagini (120 fette assiali contigue dello spessore di 1.2 mm), caratterizzate da: TR = 25 msec, TE = 4.6 msec, flip angle = 30°, matrice 256x256.
2. Fluid Attenuated Inversion Recovery (3DFLAIR): sequenza di nuova generazione che abbina tutte le caratteristiche delle convenzionali sequenze FLAIR ad una acquisizione volumetrica simile alle FFE (50 fette assiali contigue dallo spessore di 3 mm, TE = 120 msec, TR = 10000 msec, Inversion Time = 2500 msec, matrice 256x256).

Analisi dei dati di fMRI. I volumi EPI di entrambi i gruppi di soggetti sono stati ‘pre-processati’ (riallineamento spaziale, normalizzazione e smoothing) utilizzando il software SPM5 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm). Successivamente i dati sono stati analizzati attraverso un’analisi ‘*random-effects*’ mirata a confrontare le attivazioni cerebrali ottenute nei due gruppi di soggetti per le due condizioni sperimentali testate (condizione di afferramento e condizione di controllo). La soglia statistica applicata ai contrasti di interesse era di $p < 0.001$ (non corretta). Sono stati considerati solamente i *clusters* che presentavano una dimensione maggiore di 20 voxels.

Post-Processing dei dati MRI strutturali.

Misurazione del carico lesionale in Sostanza bianca (SB). Una tecnica semiautomatica di segmentazione delle lesioni (Fuzzy C-mean), inclusa nel Medical

Images Processing, Analysis and Visualization MIPAV (<http://mipav.cit.nih.gov>), software progettato al National Institute of Health, ha permesso di quantificare, per ogni paziente, il carico lesionale nella SB (non definito) (T2 lesion volume, T2LV). Tale metodica sfrutta sequenze 3D-FLAIR volumetriche che permettono l'acquisizione di immagini con spessore di strato inferiore (3mm) rispetto allo standard (5mm): risulta così possibile effettuare una ricostruzione tridimensionale dell'encefalo e delle lesioni determinando quindi con elevata precisione l'esatto volume cerebrale occupato da queste ultime. Il coefficiente di variazione della riproducibilità intra- e inter-operatore della tecnica è risultato sempre inferiore all'1%.

Misurazione del volume corticale totale e regionale. Brain parenchyma fraction (BPF), Grey Matter fraction (GMF) and White Matter fraction (WMF) sono stati calcolati mediante l'applicazione di una serie di algoritmi completamente automatici (Brain extraction tool, Fuzzy C-mean) inclusi nel MIPAV. Tali algoritmi applicati alle immagini 3D-FFE permettono di calcolare separatamente il volume normalizzato della sostanza grigia corticale, della sostanza bianca e del liquor cerebrospinale.

4.2 Risultati

Risultati di MRI morfologica

Tutte le immagini acquisite sono state esaminate da un neurologo e da un neuroradiologo con specifica esperienza in SM e in cieco rispetto allo stato clinico del paziente. Poiché i due campioni differivano in età e questo costituiva un bias nella elaborazione dei dati, per testare la differenza tra gruppi in termini di GMF

abbiamo utilizzato una ANCOVA, in cui l'età dei soggetti e' stata inclusa come covariata. In questo modo la differenza di GMF tra gruppi viene corretta per età.

Nei soggetti di controllo, le immagini di RM cerebrale morfologica acquisite non hanno evidenziato lesioni né corticali né in sostanza bianca. La BPF nei soggetti sani è risultata $84\% \pm 0.02$ (range 78.5-86.3%). Dopo correzione per età, la GMf dei controlli normali è risultata $40.2 \pm 2.1\%$ (range 34.4-42.9%). (Tabella 4.4)

Nei pazienti con SM il carico lesionale medio in T2 era $2082 \pm 2350 \text{ mm}^3$ (range 481-7685 mm^3), mentre il numero medio di lesioni corticali era 3 ± 4 (0-12). La BPF nei pazienti è risultata $84.5\% \pm 0.02$ (range 81.8-88.8%), la GMF corretta per età è risultata $40.0\% \pm 1.6$ (range 38.1-45%), valore statisticamente significativo (SM versus CN: $F= 29.907$, $p < 0.001$). La WMF $42.9\% \pm 0.02$ (range 39.3-46.5%). (Tabella 4.4)

Gruppo	Età media	Carico lesionale in T2 medio	Carico in corteccia in DIR medio	BPF medio (%)	GMf medio (%)	GMf medio corretto per età (%)	WMf medio (%)
Pazienti con SM	29.7	2082	3	84	40.7	40.0 ± 1.6	49.9
Volontari sani	35.1	n.e	n.e	82	39.7	40.2 ± 2.1	n.e

Tabella 4.4. Parametri di RM morfologica nei pazienti SM e nei controlli normali.

Risultati fMRI

Sono stati condotti quattro contrasti principali al fine di individuare sia il pattern di attivazione prodotto dall'osservazione di azioni di prensione nei due gruppi di soggetti (pazienti e controlli sani), che eventuali differenze significative tra i gruppi.

1° Contrasto. Condizione di prensione > condizione di controllo in soggetti sani

Il confronto tra la condizione di prensione e la condizione di controllo (prensione > controllo) all'interno del gruppo di soggetti sani, ha evidenziato differenze di attivazione significative nel giro precentrale, nel giro frontale medio ed inferiore (*pars opercularis*), nel lobo parietale superiore ed inferiore, e nell'area motoria supplementare. Tutte le attivazioni sono state riscontrate bilateralmente, ad eccezione del giro frontale medio nel quale l'attivazione è limitata all'emisfero destro (Figura 4.3A).

2° Contrasto. Condizione di prensione > condizione di controllo in pazienti SM

Il confronto tra la condizione di prensione e la condizione di controllo (prensione > controllo) all'interno del gruppo di pazienti MS, ha evidenziato un *pattern* di attivazione molto simile a quello emerso nei soggetti normali. Differenze di attivazione significative sono state riscontrate nel giro precentrale, nel giro frontale medio ed inferiore (*pars opercularis*), nel lobo parietale superiore ed inferiore e nell'area motoria supplementare. Tutte le attivazioni sono state riscontrate bilateralmente, ad eccezione del giro frontale medio nel quale l'attivazione è limitata all'emisfero destro. (Figura 4.3B).

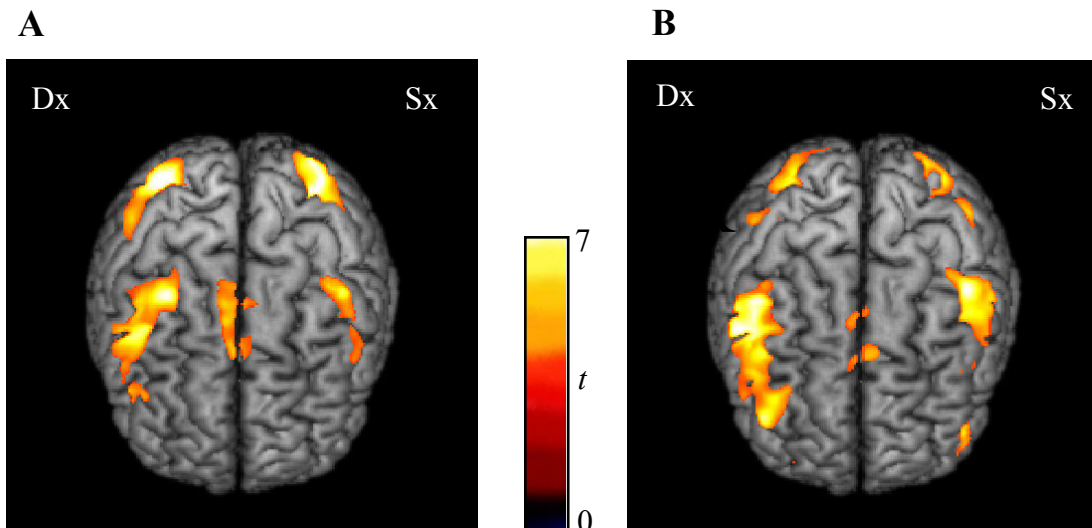


Figura 4.3 Mappe di attivazione per il contrasto condizione di afferramento > condizione di controllo in soggetti sani (pannello A) e per il contrasto condizione di afferramento > condizione di controllo in soggetti affetti da SM (pannello B). $p < .001$ non corretto. Destra (Dx); sinistra (Sx).

3° Contrasto. Condizione di prensione in pazienti SM > condizione di prensione in soggetti sani

Questo contrasto mirato a confrontare l'attivazione prodotta dall'osservazione di azioni di prensione tra i due gruppi di soggetti considerati nella presente ricerca, ha evidenziato un aumento significativo di attivazione di aree corticali nei pazienti rispetto ai controlli sani, in particolare nel giro occipitale inferiore e nel giro precentrale (Figura 4.4A e Tabella 2). Entrambe le attivazioni erano bilaterali (Figura 4.4A e Tabella 2). Il contrasto inverso, condizione di prensione in soggetti sani > condizione di prensione in pazienti affetti da SM non ha indicato alcuna differenza significativa.

4° Contrasto. Condizione di controllo in soggetti affetti da SM > condizione di controllo in soggetti sani

Tale contrasto ha evidenziato un aumento significativo di attivazione, nei pazienti

rispetto ai controlli sani, confinato esclusivamente al giro occipitale inferiore sinistro (Tabella 2 e Figura 4.4B). Non sono state trovate differenze di attivazione significative a livello della corteccia premotoria. Il contrasto inverso, condizione di controllo in soggetti sani > condizione di controllo in pazienti affetti da SM non ha indicato alcuna differenza significativa.

Regione	Probabilità Citoarchitettonica	T	Z	Coordinate MNI (x,y,z) mm		
Condizione di afferramento MS > sani						
<i>Corteccia frontale</i>						
Giro precentrale D	Area 6 (20%)	3.90	3.63	50	0	38
Giro precentrale S	Area 6 (40%)	3.72	3.48	-46	-4	40
<i>Corteccia Occipitale</i>						
Giro occipitale inferiore D		5.93	4.85	36	-76	-2
Giro occipitale inferiore S		5.30	4.70	-32	-78	-8
Giro fusiforme S	Area 18 (10%)	3.85	3.59	-24	-86	-18
Giro occipitale medio D		4.13	3.81	30	-92	6
Giro occipitale medio S	Area 18 (10%)	4.30	3.95	-24	-92	6
Condizione di controllo MS > sani						
<i>Corteccia Occipitale</i>						
Giro occipitale inferiore S		5.30	4.70	-32	-78	-8
Giro fusiforme S	Area 18 (10%)	4.70	4.25	-36	-82	-14

Tabella 2. Coordinate dei fuochi di attivazione per i due contrasti di interesse (condizione di afferramento in soggetti affetti da SM > condizione di afferramento in soggetti sani e condizione di controllo in soggetti affetti da SM > condizione di controllo in soggetti sani) $p < 0.001$ non corretto. Coordinate positive sull'asse x indicano che il cluster riportato è localizzato a destra. Coordinate negative indicano una lateralizzazione a sinistra.

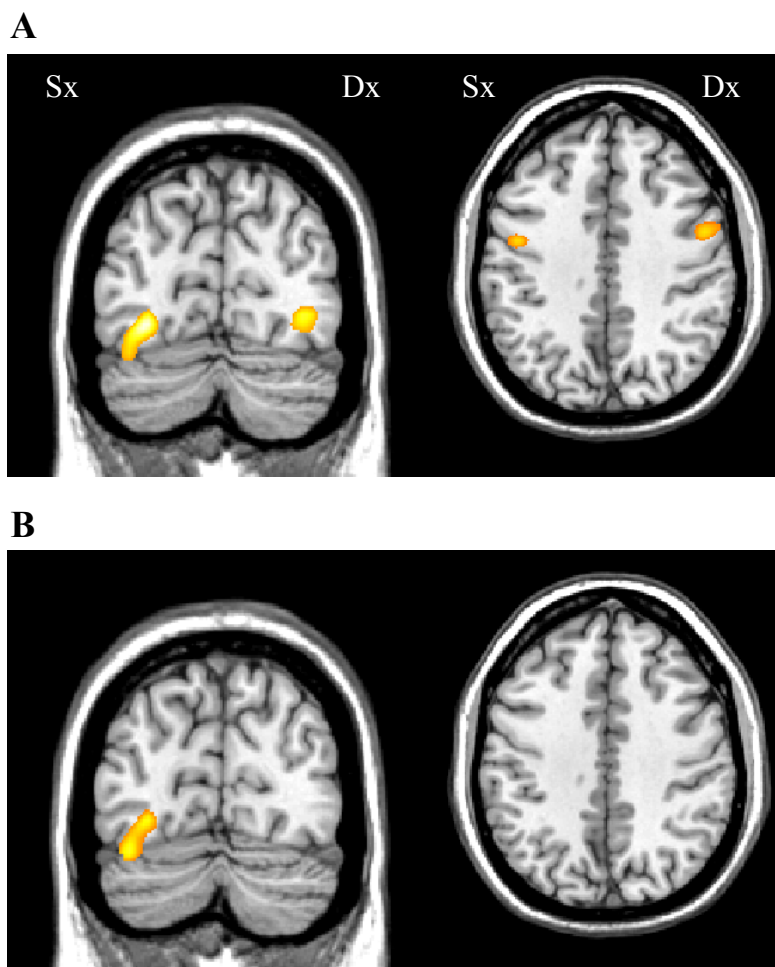


Figura 4.4. Mappe di attivazione per il contrasto condizione di afferramento in soggetti affetti da SM > condizione di afferramento in soggetti sani (pannello A) e per il contrasto condizione di controllo in soggetti affetti da SM > condizione di controllo in soggetti sani (pannello B). $p < .001$ non corretto. Destra (Dx); sinistra (Sx)

4.3 Discussione

Lo scopo della presente ricerca era quello di individuare eventuali differenze di attivazione neuronale corticale tra pazienti con SM all'esordio clinico e soggetti sani di controllo in risposta all'osservazione di azioni di prensione eseguite con la mano. Precedenti studi condotti con tecniche di *brain imaging* hanno dimostrato, in soggetti neurologicamente sani, che la semplice osservazione di azioni di prensione eseguite su di un oggetto produce un incremento di attivazione cerebrale in un *network* di aree fronto-parietali comprendente la corteccia premotoria sia dorsale che ventrale e il

settore inferiore del lobo parietale (e.g., [65] Gazzola et al., 2007). Le proprietà funzionali di tale *network* sono state descritte prevalentemente in individui sani e, a quanto ci è dato di conoscere, non sono stati pubblicati studi in pazienti con patologie neurologiche, se si eccettua l'autismo (xx). Studi recenti hanno evidenziato che individui affetti da SM, anche in assenza di deficit motori clinicamente apprezzabili, presentano un alterato pattern di reclutamento delle aree corticali deputate all'esecuzione di un movimento. In particolare, all'esordio clinico di malattia si apprezza un aumento del reclutamento delle aree cerebrali appartenenti al sistema sensori-motorio, mentre nelle fasi più avanzate di malattia vengono attivate aree addizionali, localizzate nel lobo parietale e frontale ipsi- e contro-laterali all'arto utilizzato [51] [56]. Esiste quindi un'attività compensatoria delle aree deputate all'esecuzione del movimento che può coinvolgere aree vicarianti limitrofe, al fine di limitare l'impatto clinico dei danni strutturali cerebrali. Non è ancora noto se i deficit riscontrati siano confinati solo all'esecuzione del movimento o coinvolgano anche la sua comprensione, soprattutto nelle fasi iniziali di malattia.

Nel nostro studio abbiamo valutato l'attivazione corticale misurata con tecniche fMRI durante l'osservazione di azioni di prensione in 15 soggetti sani ed in 12 pazienti affetti da SM all'esordio clinico. I pazienti all'esordio di malattia presentavano un quadro clinico-neuroradiologico simile, con minima disabilità, basso carico lesionale e volumi cerebrali simili ai controlli, costituendo pertanto un gruppo omogeneo in cui valutare la plasticità corticale.

Le prime due analisi dei dati di fMRI sono state effettuate per confrontare le attivazioni neurali presenti in risposta all'osservazione dell'azione, nel gruppo di volontari sani e nei pazienti con SM. Dal contrasto tra la condizione di "afferramento" e la condizione di controllo (mano posta di fianco all'oggetto) sono

emerse differenze significative di attivazione nel giro precentrale, nel giro frontale medio ed inferiore (*pars opercularis*), nel lobo parietale superiore ed inferiore, e nell'area motoria supplementare. Sia nei pazienti che negli individui sani, tali attivazioni sono state osservate bilateralmente, ad eccezione del giro frontale medio nel quale l'attivazione è limitata al solo emisfero destro.

Le nostre osservazioni sono in armonia con dati della letteratura che descrivono il *sistema di osservazione dell'azione* in risposta a movimenti raggiungimento e di prensione dell'oggetto. Tale sistema, in parte sovrapposto al sistema dei "neuroni specchio", è infatti formato da aree premotorie ventrali e dorsali (F5 nei primati non umani, giro frontale inferiore nell'uomo), da aree parietali (PF nei primati non umani e lobo parietale inferiore nell'uomo), e dal solco temporale superiore (Decety et al., 1994; si veda Rizzolatti e Craighero, 2004 per una rassegna).

Come già accennato precedentemente, nel solco temporale superiore (STS) sono localizzati neuroni che rispondono esclusivamente all'osservazione di movimenti eseguiti da altri individui (proprietà visive). Nel lobo parietale e nella corteccia premotoria sono invece presenti neuroni con proprietà sia visive sia motorie, e che rispondono non solo durante l'esecuzione, ma anche durante l'osservazione dell'azione (i.e., interazione mano-oggetto). Come riscontrato per le scimmie, si ritiene che anche nell'uomo vi sia un sistema mirror fronto-parietale che risponde sia nell'esecuzione che nell'osservazione e una regione dell'STS che risponde esclusivamente all'osservazione dell'azione.

Il principale ruolo attribuito al "Sistema di Osservazione dell'azione" è la *comprensione del significato* delle azioni altrui, e ciò sembra possibile mediante il riconoscimento delle azioni "dell'altro" nel proprio repertorio "motorio" (Rizzolatti

& Craighero, 2004).). L'abilità di comprendere il significato delle azioni altrui è fondamentale ai fini di un adeguato adattamento al proprio ambiente poiché, in sua assenza, potremmo raggiungere solo una rappresentazione sensoriale degli altrui movimenti ed i comportamenti ci apparirebbero una sequenza di azioni prive di senso.

I risultati finora esposti sembrano supportare quanto descritto circa i circuiti neurali sottostanti il “Sistema di Osservazione dell'azione”, tuttavia lo scopo principale del nostro studio era di individuare eventuali differenze di attivazione neuronale corticale tra pazienti con SM all'esordio clinico e soggetti sani in risposta all'osservazione di azioni. Abbiamo quindi verificato se anche in fase di osservazione dell'azione erano presenti alterazioni funzionali precoci, già riscontrate, durante l'esecuzione di azioni [51] [53]; [54].

I risultati del nostro studio indicano significative differenze di attivazione neuronale corticale tra pazienti SM all'esordio clinico e soggetti di controllo in risposta all'osservazione di azioni di prensione eseguite con la mano. In particolare, i dati hanno dimostrato come, durante *l'osservazione di azioni*, la porzione inferiore della corteccia occipitale e il settore dorsale della corteccia premotoria (giro precentrale) risultino significativamente più attivati nei pazienti SM rispetto al gruppo di controllo.

Il risultato più interessante riguarda il maggior livello di attivazione mostrato dai pazienti SM nel giro precentrale, una delle aree nota per la sua risposta all'osservazione di azioni dirette verso un oggetto (i.e. [65]; Gazzola et al., 2007; si veda Rizzolatti e Craighero, 2004 per una rassegna).

Dall'analisi delle aree attivate durante la condizione di controllo (mano di fianco all'oggetto) è inoltre emersa una differenza significativa di attivazione , nei

pazienti rispetto ai controlli sani, confinata esclusivamente al giro occipitale inferiore e nel giro fusiforme, nell'emisfero sinistro.

Questi risultati sembrano pertanto suggerire che il meccanismo di “*over-activation*” riscontrato per l'esecuzione di azioni di prensione in pazienti SM all'esordio clinico possa essere esteso anche a situazioni di osservazione e di codifica del significato dell'azione. Essi inoltre confermano che i pazienti SM presentano una riorganizzazione corticale precoce, espressione di una patologia corticale sub-clinica e indipendente dal carico lesionale della sostanza bianca.

BIBLIOGRAFIA

1. Allegretta, M., et al., *T cells responsive to myelin basic protein in patients with multiple sclerosis*. Science, 1990. **247**(4943): p. 718-21.
2. Ebers, G.C., et al., *A full genome search in multiple sclerosis*. Nat Genet, 1996. **13**(4): p. 472-6.
3. Ebers, G.C. and A.D. Sadovnick, *The role of genetic factors in multiple sclerosis susceptibility*. J Neuroimmunol, 1994. **54**(1-2): p. 1-17.
4. Rosati, G., *Descriptive epidemiology of multiple sclerosis in Europe in the 1980s: a critical overview*. Ann Neurol, 1994. **36 Suppl 2**: p. S164-74.
5. Poser, C.M., *The epidemiology of multiple sclerosis: a general overview*. Ann Neurol, 1994. **36 Suppl 2**: p. S180-93.
6. Compston, A., *The epidemiology of multiple sclerosis: principles, achievements, and recommendations*. Ann Neurol, 1994. **36 Suppl 2**: p. S211-7.
7. Ranzato, F., et al., *Increasing frequency of multiple sclerosis in Padova, Italy: a 30 year epidemiological survey*. Mult Scler, 2003. **9**(4): p. 387-92.
8. Comi, G., et al., *A multiparametric MRI study of frontal lobe dementia in multiple sclerosis*. J Neurol Sci, 1999. **171**(2): p. 135-44.
9. Huijbregts, S.C., et al., *Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS*. Neurology, 2004. **63**(2): p. 335-9.
10. Rao, S.M., et al., *Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction*. Neurology, 1991. **41**(5): p. 685-91.

11. Rao, S.M., et al., *Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning*. Neurology, 1991. **41**(5): p. 692-6.
12. Rao, S.M., et al., *Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis*. Neurology, 1989. **39**(2 Pt 1): p. 161-6.
13. Swirsky-Sacchetti, T., et al., *Neuropsychological and structural brain lesions in multiple sclerosis: a regional analysis*. Neurology, 1992. **42**(7): p. 1291-5.
14. Rao, S., *Cognitive function in patients with multiple sclerosis: impairment and treatment*. Int J MS Care, 2004. **1**: p. 9-22.
15. Amato, M.P., et al., *Cognitive impairment in early-onset multiple sclerosis. Pattern, predictors, and impact on everyday life in a 4-year follow-up*. Arch Neurol, 1995. **52**(2): p. 168-72.
16. Kujala, P., R. Portin, and J. Ruutiainen, *The progress of cognitive decline in multiple sclerosis. A controlled 3-year follow-up*. Brain, 1997. **120 (Pt 2)**: p. 289-97.
17. M.P. Amato, G.F.S., V. Zipoli, *Disturbi cognitivi Aspetti psico-sociali della sclerosi multipla*. 2002: Springer Italia.
18. W. Beatty, D.E.G., N. Monson, et al, *Screening for cognitive impairment in multiple sclerosis: an evaluation of the Mini-Mental-State-Examination*. Arch Neurol 1990. **47**: p. 290-301.
19. RK Heaton, L.T., L.M Nelson et al, *Brief and intermediate-length screening of neuropsychological impairment in multiple sclerosis*, in *Neurobehavioral aspects of multiple sclerosis*, RAO, Editor. 1990, Oxford University Press: New York. p. 149-160.

20. Jacobs, J.W., et al., *Screening for organic mental syndromes in the medically ill*. *Ann Intern Med*, 1977. **86**(1): p. 40-6.
21. Fischer, J.S., et al., *Neuropsychological effects of interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis*. *Multiple Sclerosis Collaborative Research Group*. *Ann Neurol*, 2000. **48**(6): p. 885-92.
22. Rao, S.M., *Cognitive function studyy group*. *National multiple sclerosis society*. *A manual for the brief repeatable battery of neuropsychological test in multiple sclerosis*. 1990, New York: National multiple sclerosis society.
23. Basso, M.R., et al., *Screening for cognitive dysfunction in multiple sclerosis*. *Arch Neurol*, 1996. **53**(10): p. 980-4.
24. Mainero, C., et al., *fMRI evidence of brain reorganization during attention and memory tasks in multiple sclerosis*. *Neuroimage*, 2004. **21**(3): p. 858-67.
25. Staffen, W., et al., *Cognitive function and fMRI in patients with multiple sclerosis: evidence for compensatory cortical activation during an attention task*. *Brain*, 2002. **125**(Pt 6): p. 1275-82.
26. Audoin, B., et al., *Compensatory cortical activation observed by fMRI during a cognitive task at the earliest stage of MS*. *Hum Brain Mapp*, 2003. **20**(2): p. 51-8.
27. Rocca, M.A. and M. Filippi, *Functional MRI in multiple sclerosis*. *J Neuroimaging*, 2007. **17 Suppl 1**: p. 36S-41S.
28. A.E. Thornton, N.R., *Memory impairment in multiple sclerosis: a quantitative review*. *Neuropsychology*, 1997. **11**(3): p. 357-366.
29. I.K. Penner, M.R., L. Kappos, K. Opwies, W. Radu, *Analysis of impairment related fuinctional architectrue in MS patients during performance of different attention tasks*. *J. Neurol* 2003. **250**(4): p. 461-472.

30. L.H. Sweet, S.M.R., M. Primeau, A.R. Mayer, R.A. Cohen *Functional magnetic resonance imaging of working memory among multiple sclerosis patients*. J Neuroimaging. **14**(2): p. 50-57.
31. Link, H. and G. Tibbling, *Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis*. Scand J Clin Lab Invest, 1977. **37**(5): p. 397-401.
32. Tourtellotte, W.W., et al., *Multiple sclerosis: measurement and validation of central nervous system IgG synthesis rate*. Neurology, 1980. **30**(3): p. 240-4.
33. Reiber, H. and K. Felgenhauer, *Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system*. Clin Chim Acta, 1987. **163**(3): p. 319-28.
34. Ohman, S., et al., *An improved formula for the judgement of intrathecally produced IgG in the presence of blood brain barrier damage*. Clin Chim Acta, 1989. **181**(3): p. 265-72.
35. M Onofri, M.B., AG Censoni, D gambi, *Serial recording of VEPs to different stimuli in multiple sclerosis patients*. Ital J Neurol Sci 1987. **6**: p. 113-119.
36. A. M. Halliday, W.Y.M., , J Mushin, *Delayed vidual evoked response in optic neuritis*. Lancet, 1972. **1**: p. 982-985.
37. Poser, C.M., et al., *New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols*. Ann Neurol, 1983. **13**(3): p. 227-31.
38. Prineas, J.W., *The neuropathology of multiple sclerosis*, in *Hanbook of clinical neurology* J.B. P.J. Vinken, H.L. Klawans, J. C. Kietsier, Editor. 1985, Elsevier Amsterdam. p. 213-217.

39. Barkhof, F., et al., *Relapsing-remitting multiple sclerosis: sequential enhanced MR imaging vs clinical findings in determining disease activity*. AJR Am J Roentgenol, 1992. **159**(5): p. 1041-7.
40. Isaac, C., et al., *Multiple sclerosis: a serial study using MRI in relapsing patients*. Neurology, 1988. **38**(10): p. 1511-5.
41. Willoughby, E.W., et al., *Serial magnetic resonance scanning in multiple sclerosis: a second prospective study in relapsing patients*. Ann Neurol, 1989. **25**(1): p. 43-9.
42. Harris, J.O., et al., *Serial gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging scans in patients with early, relapsing-remitting multiple sclerosis: implications for clinical trials and natural history*. Ann Neurol, 1991. **29**(5): p. 548-55.
43. Thompson, A.J., et al., *Serial gadolinium-enhanced MRI in relapsing/remitting multiple sclerosis of varying disease duration*. Neurology, 1992. **42**(1): p. 60-3.
44. McDonald, W.I., et al., *Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2001. **50**(1): p. 121-7.
45. Chris H. Polman, S.C.R., Gilles Edan, MD, Massimo Filippi, et al., *Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the "McDonald Criteria"*. Ann Neurol, 2005. **58**: p. 840-846.
46. Barkhof, F., et al., *Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis*. Brain, 1997. **120 (Pt 11)**: p. 2059-69.

47. Tintore, M., et al., *Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis*. AJNR Am J Neuroradiol, 2000. **21**(4): p. 702-6.
48. Fazekas, F., et al., *Criteria for an increased specificity of MRI interpretation in elderly subjects with suspected multiple sclerosis*. Neurology, 1988. **38**(12): p. 1822-5.
49. Paty, D.W., et al., *MRI in the diagnosis of MS: a prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding, and CT*. Neurology, 1988. **38**(2): p. 180-5.
50. Filippi, M., M.A. Rocca, and G. Comi, *The use of quantitative magnetic-resonance-based techniques to monitor the evolution of multiple sclerosis*. Lancet Neurol, 2003. **2**(6): p. 337-46.
51. Rocca, M.A., et al., *Cortical adaptation in patients with MS: a cross-sectional functional MRI study of disease phenotypes*. Lancet Neurol, 2005. **4**(10): p. 618-26.
52. Filippi, M. and M.A. Rocca, *Disturbed function and plasticity in multiple sclerosis as gleaned from functional magnetic resonance imaging*. Curr Opin Neurol, 2003. **16**(3): p. 275-82.
53. Filippi, M. and M.A. Rocca, *Cortical reorganisation in patients with MS*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2004. **75**(8): p. 1087-9.
54. Reddy, H., et al., *Evidence for adaptive functional changes in the cerebral cortex with axonal injury from multiple sclerosis*. Brain, 2000. **123** (Pt 11): p. 2314-20.
55. Werring, D.J., et al., *Recovery from optic neuritis is associated with a change in the distribution of cerebral response to visual stimulation: a functional*

- magnetic resonance imaging study. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2000. 68(4): p. 441-9.*
56. Filippi, M., et al., *A functional MRI study of cortical activations associated with object manipulation in patients with MS. Neuroimage, 2004. 21(3): p. 1147-54.*
57. Parry, A.M., et al., *Potentially adaptive functional changes in cognitive processing for patients with multiple sclerosis and their acute modulation by rivastigmine. Brain, 2003. 126(Pt 12): p. 2750-60.*
58. Filippi, M., et al., *Functional magnetic resonance imaging correlates of fatigue in multiple sclerosis. Neuroimage, 2002. 15(3): p. 559-67.*
59. Rocca, M.A., et al., *A functional magnetic resonance imaging study of patients with secondary progressive multiple sclerosis. Neuroimage, 2003. 19(4): p. 1770-7.*
60. Pantano, P., et al., *A longitudinal fMRI study on motor activity in patients with multiple sclerosis. Brain, 2005. 128(Pt 9): p. 2146-53.*
61. Filippi, M., et al., *Correlations between structural CNS damage and functional MRI changes in primary progressive MS. Neuroimage, 2002. 15(3): p. 537-46.*
62. Pantano, P., et al., *Contribution of corticospinal tract damage to cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. Neuroimage, 2002. 17(4): p. 1837-43.*
63. Pantano, P., et al., *Cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. Brain, 2002. 125(Pt 7): p. 1607-15.*
64. Binkofski, F., et al., *A fronto-parietal circuit for object manipulation in man: evidence from an fMRI-study. Eur J Neurosci, 1999. 11(9): p. 3276-86.*

65. Buccino, G., et al., *Action observation activates premotor and parietal areas in a somatotopic manner: an fMRI study*. Eur J Neurosci, 2001. **13**(2): p. 400-4.
66. Rizzolatti, G., L. Fogassi, and V. Gallese, *Parietal cortex: from sight to action*. Curr Opin Neurobiol, 1997. **7**(4): p. 562-7.
67. Cohen, Y.E. and R.A. Andersen, *A common reference frame for movement plans in the posterior parietal cortex*. Nat Rev Neurosci, 2002. **3**(7): p. 553-62.
68. Matelli, M., et al., *Afferent and efferent projections of the inferior area 6 in the macaque monkey*. J Comp Neurol, 1986. **251**(3): p. 281-98.
69. di Pellegrino, G., et al., *Understanding motor events: a neurophysiological study*. Exp Brain Res, 1992. **91**(1): p. 176-80.
70. Rizzolatti, G., et al., *Premotor cortex and the recognition of motor actions*. Brain Res Cogn Brain Res, 1996. **3**(2): p. 131-41.
71. Petrides, M. and D.N. Pandya, *Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey*. J Comp Neurol, 1984. **228**(1): p. 105-16.
72. Hyvarinen, J., S. Carlson, and L. Hyvarinen, *Early visual deprivation alters modality of neuronal responses in area 19 of monkey cortex*. Neurosci Lett, 1981. **26**(3): p. 239-43.
73. Keysers, C. and D.I. Perrett, *Demystifying social cognition: a Hebbian perspective*. Trends Cogn Sci, 2004. **8**(11): p. 501-7.
74. Perrett, *Understanding the visual appearance and consequence of hand actions*. , in *Vision and action. The control of grasping*, M.A. Goodale, Editor. 1990, Ablex Publishing: Norwood, New Jersey. p. 163-180.

75. Allison, T., A. Puce, and G. McCarthy, *Social perception from visual cues: role of the STS region*. Trends Cogn Sci, 2000. **4**(7): p. 267-278.
76. Perrett, D.I., et al., *Frameworks of analysis for the neural representation of animate objects and actions*. J Exp Biol, 1989. **146**: p. 87-113.
77. Jellema, T., et al., *Neural representation for the perception of the intentionality of actions*. Brain Cogn, 2000. **44**(2): p. 280-302.
78. Rizzolatti, G., et al., *Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey. II. Area F5 and the control of distal movements*. Exp Brain Res, 1988. **71**(3): p. 491-507.
79. V. Gallese, L.F., L. Fadiga, G, Rizzolatti, *Action representation and the inferior parietal lobule, in Common mechanisms in perception and action: attention and performance*. 2002, Oxford University Press: New York. p. 247-266.
80. Raos, V., M.N. Evangeliou, and H.E. Savaki, *Observation of action: grasping with the mind's hand*. Neuroimage, 2004. **23**(1): p. 193-201.
81. Fadiga, L., et al., *Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study*. J Neurophysiol, 1995. **73**(6): p. 2608-11.
82. Grafton, S.T., et al., *Localization of grasp representations in humans by positron emission tomography. 2. Observation compared with imagination*. Exp Brain Res, 1996. **112**(1): p. 103-11.
83. Rizzolatti, G., et al., *Localization of grasp representations in humans by PET: 1. Observation versus execution*. Exp Brain Res, 1996. **111**(2): p. 246-52.

84. Johnson-Frey, S.H., et al., *Actions or hand-object interactions? Human inferior frontal cortex and action observation*. *Neuron*, 2003. **39**(6): p. 1053-8.
85. Shmuelof, L. and E. Zohary, *Dissociation between ventral and dorsal fMRI activation during object and action recognition*. *Neuron*, 2005. **47**(3): p. 457-70.
86. Hari, R., et al., *Activation of human primary motor cortex during action observation: a neuromagnetic study*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. **95**(25): p. 15061-5.
87. Nishitani, N. and R. Hari, *Temporal dynamics of cortical representation for action*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. **97**(2): p. 913-8.
88. Cochin, S., et al., *Perception of motion and qEEG activity in human adults*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1998. **107**(4): p. 287-95.
89. Strafella, A.P. and T. Paus, *Modulation of cortical excitability during action observation: a transcranial magnetic stimulation study*. *Neuroreport*, 2000. **11**(10): p. 2289-92.
90. Baldissera, F., et al., *Modulation of spinal excitability during observation of hand actions in humans*. *Eur J Neurosci*, 2001. **13**(1): p. 190-4.
91. Patuzzo, S., A. Fiaschi, and P. Manganotti, *Modulation of motor cortex excitability in the left hemisphere during action observation: a single- and paired-pulse transcranial magnetic stimulation study of self- and non-self-action observation*. *Neuropsychologia*, 2003. **41**(9): p. 1272-8.
92. Bonda, E., et al., *Specific involvement of human parietal systems and the amygdala in the perception of biological motion*. *J Neurosci*, 1996. **16**(11): p. 3737-44.

93. Pelphrey, K.A., et al., *Functional anatomy of biological motion perception in posterior temporal cortex: an FMRI study of eye, mouth and hand movements*. Cereb Cortex, 2005. **15**(12): p. 1866-76.
94. Avikainen, S., N. Forss, and R. Hari, *Modulated activation of the human SI and SII cortices during observation of hand actions*. Neuroimage, 2002. **15**(3): p. 640-6.
95. Calabrese, M., et al., *Cortical atrophy is relevant in multiple sclerosis at clinical onset*. J Neurol, 2007.
96. Calabrese, M., et al., *Detection of cortical inflammatory lesions by double inversion recovery magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis*. Arch Neurol, 2007. **64**(10): p. 1416-22.