

Titolo Tesi Di Dottorato

Applicazioni della Spettroscopia nel vicino infrarosso (fNIRS) e della Mirror Therapy per la riabilitazione dell'arto superiore in pazienti post-stroke: uno studio di plasticità cerebrale

Tutor : Dott.ssa Silvia Marino

Dottoranda: Caterina Formica

Sommario

1 Abstract	3
2 Introduzione	4
3 La riabilitazione post-ictus	5
3.1 La riabilitazione dell'arto superiore	5
4 La Neuroplasticità	6
5 La MirrorTherapy e il Motor Imagery	7
6 Materiali e Metodi	9
6.1 Partecipanti.....	9
6.2 Procedure.....	9
6.3 La Spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS)	10
7 Analisi Statistica	11
7.1 Measurement model	11
7.2 fNIRS data preprocessing.....	12
8 Risultati	12
8.1 Attivazioni motorie gruppo sinistra e destra	13
8.2 Attivazioni con stimoli tattile gruppo sinistra e destra.....	13
9 Discussione	17
Conclusioni	18
Referenze	19
Ringraziamenti	24

1 Abstract

L'ictus cerebrale negli ultimi 20 anni registra un aumento della sua incidenza sulla popolazione italiana, conseguente anche ad un aumento dell'età demografica media. L'ictus determina un'ampia gamma di deficit funzionali che possono essere recuperati con un progetto riabilitativo mirato ed anche rimanere in parte o in toto permanenti. Negli ultimi anni è stato affermato che l'approccio multidisciplinare sembra essere necessario per contribuire ad un recupero funzionale del paziente in tempi brevi. Cercando di garantire al paziente, quanto più possibile, la restituzione di una vita quanto più autonoma possibile, nell'espletamento delle attività di base di vita quotidiana. Lo scopo dell'intervento riabilitativo è quello di promuovere nel paziente un apprendimento di nuove competenze, sfruttando i distretti cerebrali rimasti integri e reclutandone di nuovi. Lo scopo della Tesi di Dottorato è stato quello di dimostrare, come la tecnica Mirror Therapy, nell'ambito della riabilitazione dell'arto superiore, favorisca la riorganizzazione, la rimodulazione corticale e riduca l'asimmetria dell'attività emisferica. Il riarrangiamento dei circuiti neuronali è stato valutato attraverso la registrazione della risposta emodinamica cerebrale acquisita dalla Near Infrared Spectroscopy (NIRS). L'esperimento che abbiamo eseguito è stato condotto in due fasi: la prima in cui il paziente eseguiva i task osservando i movimenti della mano sana allo specchio (fase Mirror); nella seconda fase il paziente eseguiva gli stessi task ma lo specchio coperto (fase No Mirror). I task consistevano in stimolazioni tattili (liscio, ruvido) e stimolazioni motorie attraverso il finger tapping e il grasping. I risultati preliminari che abbiamo ottenuto sono incoraggianti. In particolare, in entrambi i gruppi è stata osservata una significativa attivazione di alcune aree cerebrali nella fase Mirror mentre, sono stati osservati livelli di attivazione inferiore in fase no Mirror. Le attivazioni di questi circuiti neuronali ci dimostrano che, nonostante la lesione cerebrale coinvolga le aree motorie queste vengono attivate anche solo attraverso il riflesso di un movimento allo specchio, creando al cervello una sorta di inganno. La Mirror Therapy, applicata in pazienti post-ictus in fase subacuta che presentavano emiparesi agli arti superiori, ha quindi favorito la riorganizzazione, la rimodulazione corticale. Tale risultato incoraggia nella definizione di progetti atti a migliorare gli attuali sistemi riabilitativi ed integrare nella pratica clinica l'uso di questi strumenti.

2 Introduzione

L'ictus cerebrale rappresenta la seconda causa di morte e la terza causa di disabilità a livello mondiale. [1, 2]. La prevalenza dell'ictus cerebrale aumenta con l'età. Negli ultimi 20 anni si registra un progressivo aumento. In particolare, una prevalenza di 4,9% per l'ictus ischemico e di 1,9% per l'ictus emorragico. L'età media di esordio è globalmente più elevata per gli ictus ischemici; le emorragie subaracnoidee si verificano in età più giovanile e le emorragie intraparenchimali si situano in una posizione intermedia. La distribuzione delle diverse forme di ictus cerebrale varia con l'età. Nei soggetti di età inferiore ai 45 anni è caratterizzata da una maggior percentuale (40-45%) di ictus emorragici. Gli infarti cerebrali e le emorragie intraparenchimali sono leggermente più frequenti nei maschi, mentre l'emorragia subaracnoidea prevale nelle femmine, con rapporto M:F pari a 0,87 [3].

L'ictus può determinare un'ampia gamma di deficit funzionali, dalla paresi degli arti superiori e inferiori a gravi problemi neurologici e cognitivi, che richiedono risposte riabilitative diverse in relazione alla gravità del danno cerebrale subito. Il 60% dei pazienti presenta anche problemi visivi, quasi un paziente su due ha difficoltà di deglutizione e respirazione, uno su tre soffre di disturbi del linguaggio e depressione [4, 5].

L'approccio multidisciplinare è necessario per pazienti che presentano più di una disabilità da riabilitare. Questo infatti è volto a recuperare non solo l'aspetto motorio ma anche deficit del linguaggio, il controllo di funzioni vitali ed altre facoltà complesse come l'attenzione, la memoria la capacità di programmare svolgere delle azioni complesse. Il team multidisciplinare ha come unico obiettivo quello di restituire al paziente una vita quanto più autonoma possibile, nell'espletamento delle attività di base di vita quotidiana.

Sulla base di queste evidenze scientifiche della letteratura, lo scopo della Tesi di Dottorato è stato quello di dimostrare, tramite i dati preliminari qui discussi, come la MirrorTherapy, applicata in pazienti post-ictus in fase subacuta che presentavano emiparesi agli arti superiori, favorisce la riorganizzazione, la rimodulazione corticale e riduce l'asimmetria dell'attività emisferica al fine di migliorare gli attuali sistemi riabilitativi ed integrare nella pratica clinica l'uso di questi strumenti. Il riarrangiamento dei circuiti neuronali è stato valutato attraverso la registrazione della risposta emodinamica cerebrale acquisita dalla NIRS (NearInfraredSpectroscopy) in 5 pazienti post ictus.

3 La riabilitazione post-ictus

Lo scopo dell'intervento riabilitativo è quello di promuovere nel paziente un apprendimento di nuove competenze, sfruttando i distretti cerebrali rimasti integri e reclutandone di nuovi. Secondo la guida del Ministero della Sanità, per le attività di riabilitazione [6], le varie fasi dell'assistenza a fini riabilitativi sono caratterizzate da interventi che si distinguono in relazione alla loro complessità ed alla quantità di risorse assorbite e si distinguono in:

- attività di riabilitazione intensiva:che richiedono una durata globale dell'intervento assistenziale, ai fini riabilitativi, di almeno 3 ore al giorno;
- attività riabilitativa intermedia:caratterizzata da un impegno riabilitativo che va da un'ora alle tre ore giornaliere ed un forte impegno assistenziale.

Numerose ricerche hanno discusso circa l'importanza e gli outcome che la riabilitazione intensiva può promuovere. I più recenti studi di metanalisi concordano nel ritenere necessaria un'attività riabilitativa che sia precoce ed intensiva per una migliore riuscita dell'intervento stesso [7, 8].

3.1 La riabilitazione dell'arto superiore

Nell'ambito della ricerca scientifica in riabilitazione post-ictus, si sono sviluppate diverse proposte nel settore dei trattamenti dedicati al recupero della motilità dell'arto superiore. Questa attenzione è data dal fatto che, la percentuale di soggetti in cui persiste la plegia dell'arto superiore post-ictus è del 20%. Soltanto una piccola parte presenta un recupero funzionale completo. La riabilitazione in fase acuta tende a focalizzare l'attenzione sul recupero del controllo posturale, del cammino e della mobilità generale, per questo motivo il paziente viene addestrato all'uso di nuove strategie compensatorie, eseguite con l'arto sano, per promuovere il recupero delle attività di base al rientro al domicilio. Questa tendenza sembra essere in contraddizione con le indicazioni provenienti dagli studi sulla riorganizzazione corticale post-ictus. Quindi in una prospettiva di Motor re-learning, fin dalle fasi subacute, anche dell'arto superiore paretico, ad oggi sono state messe a punto nuove tecnologie.

Negli anni si sono perfezionate diverse tipologie di intervento sia per gli arti superiori sia per gli arti inferiori. Langhorne e colleghi hanno identificato alcune tipologie di intervento, di tipo riabilitativo, che sono state utilizzate negli ultimi anni [9]. Un metodo è il biofeedback, in cui il paziente viene collocato su una piattaforma con dei sensori che misurano il carico del paziente sugli arti inferiori e il baricentro del corpo, mediante dei feedback uditivi e visivi vengono fornite le informazioni al paziente rispetto alla propria posizione e distribuzione del peso sulle gambe. Un altro intervento riabilitativo riconosciuto è il biofeedback miografico [10]. Questo consiste nell'applicazione di

elettrodi sui muscoli degli arti offesi, per catturare i potenziali motori evocati dalla quella unità muscolare. Questa strumentazione poi converte i potenziali in informazioni visive e uditive. Tecniche di ultima generazione per la riabilitazione sono i dispositivi robotici che consentono un trattamento ripetitivo e intensivo ed interattivo sia degli gli arti superiori che per degli arti inferiori, e possono essere utilizzati indipendentemente dal terapeuta. Un'altra tipologia di intervento riabilitativo, sul quale ci soffermeremo particolarmente più avanti è l'uso del "*Mentalpractice with Motor Imagery*" si tratta di impostare delle prove cognitive di un'azione motoria con lo scopo di migliorare il movimento orientato verso l'obiettivo e/o la stabilizzazione dello stesso.

4 La Neuroplasticità

Per neuroplasticità si intende la capacità del nostro Sistema Nervoso Centrale (SNC) di andare incontro a cambiamenti, modificazioni strutturali e funzionali della risposta corticale. Ciò avviene con l'esposizione del paziente a stimoli ambientali che favoriscono tali modifiche. Nei pazienti con lesioni cerebrali del SNC, i fenomeni di neuroplasticità rappresentano i meccanismi alla base del recupero spontaneo. Questo sistema può essere agevolato dalla programmazione di interventi riabilitativi specifici e mirati, fornendo stimoli ambientali adeguati per promuovere il fenomeno. La sfida delle neuroscienze è quella di comprendere i processi che innescano la neuroplasticità e rimodulazione funzionale a seguito di un danno cerebrale. Fino a poco tempo fa si era scettici circa l'eventualità che l'esperienza potesse apportare delle modifiche al cervello. Studi di letteratura hanno dimostrato, che dopo un danno cerebrale ciò è possibile. Quindi il training riabilitativo, post lesione, può rilanciare e favorire la plasticità neurale e di conseguenza il recupero funzionale motorio e cognitivo. La terapia riabilitativa, infatti, evita un'ulteriore perdita della rappresentazione delle parti lese nella corteccia intatta e induce un'espansione del territorio corticale nella corteccia adiacente, in associazione con il recupero di movimenti. Il mondo scientifico ha definitivamente accettato questa tesi solo dopo la pubblicazione del lavoro di Liepert et al. [11] che conferma, non solo il fatto che il cervello umano è fisiologicamente sensibile agli stimoli ambientali con cui il soggetto entra in contatto, ma soprattutto che questa plasticità si mantiene nei casi di ictus cerebrale. Il cervello compensa le lesioni cerebrali con meccanismi neuronali specifici. Tale fenomeno poggia fondamentalmente su due processi: la riorganizzazione funzionale dei circuiti neuronali e la ricostruzione strutturale dei circuiti stessi [12]. Nel caso della riorganizzazione funzionale il recupero è da attribuire a strutture integre. Queste, tramite la neuromodulazione, assolvono a nuove funzioni che inizialmente non erano di loro pertinenza. Il riarrangiamento strutturale consiste, invece, in quei processi di ricostituzione anatomica dei circuiti stessi nei punti in cui essi erano stati

interrotti dalla causa lesiva [13]. Tali meccanismi coinvolgono sia aree adiacenti che aree circostanti la zona cerebrale lesa [14]. Un ruolo fondamentale è da attribuire alla neoformazione di connessioni sinaptiche (sinaptogenesi) che tendono ad occupare i siti rimasti vacanti a causa della lesione.

5 La MirrorTherapy e il Motor Imagery

L'immaginazione motoria è una attivazione cerebrale visiva e/o cinestesica del movimento. È una tecnica riabilitativa che viene spesso utilizzata nei pazienti con emiplegia subita a seguito di un evento ictale [15, 16]. L'applicazione della motorimagery è comunque limitata a causa dei deficit cognitivi conseguenti all'evento, come disturbi dell'attenzione della memoria e delle funzioni esecutive superiori [17]. Ciò può compromettere la capacità stessa di simulare interamente l'azione motoria richiesta. Uno studio ha mostrato come alternativa quella di utilizzare l'osservazione dell'azione (AO), una forma diversa di stimolazione motoria che funziona attraverso il sistema dei neuroni specchio per facilitare l'attività corticale motoria di tali pazienti. Durante le performance dei pazienti in cui eseguivano sia compiti di immaginazione motoria, sia compiti di osservazione dell'azione tramite istruzioni verbali e video, veniva registrata l'attività corticale attraverso l'EEG a 19 canali [18]. Questo studio ha dimostrato che l'osservazione dell'azione motoria può rappresentare un facilitatore per i pazienti con stroke che hanno difficoltà nell'uso dell'immaginazione motoria, per stimolare e ristabilire le vie motorie cortico-periferiche. L'immaginazione motoria si avvale dell'attività neuronale dei neuroni specchio che sembrano avere un ruolo centrale nella riabilitazione dei pazienti con stroke [19]. Uno dei training utilizzati nella riabilitazione dell'arto superiore che permette l'attivazione dei circuiti dei neuroni specchio è la MirrorTherapy. Quest'ultima, si serve di uno specchio, il cui riflesso è la mano non plegica al posto della mano offesa. Questo strumento sembra essere utile per aumentare il training del movimento della stessa [20]. La MirrorTherapy (MT) negli ultimi anni è oggetto di maggiore studio rispetto alla sua possibilità di essere un grande protagonista della riabilitazione degli arti superiori e inferiori dei pazienti con stroke. Tominaga et al. [21], hanno indagato il coinvolgimento della corteccia motoria primaria, durante esercizi svolti con le immagini riflesse degli arti, monitorandol'attività tipica della regione della mano nella corteccia motoria primaria in diverse condizioni. È stato dimostrato che la corteccia motoria dominante sinistra è stata fortemente stimolata quando i soggetti osservavano la loro mano destra tenere una matita, così come quando hanno visto l'immagine speculare della mano sinistra che regge una matita. Questo studio essenzialmente mostra che l'attivazione della corteccia motoria primaria del cervello non si differenzia fortemente tra un arto reale e il suo riflesso, creando così una sorta di inganno al cervello. Un altro studio a sostegno di

questo meccanismo è stato eseguito da Shinoura et al. [22], il quale ha mostrato che la visualizzazione della mano e del suo riflesso ha attivato la corteccia motoria primaria nel lato danneggiato. I neuroni specchio, a sua volta, rappresentano un altro dei sistemi neurali coinvolti nella MT. Coinvolti nella regione frontotemporale e nella regione della circonvoluzione temporale superiore, sono definiti come dei neuroni bimodali che si attivano quando un individuo compie un'azione motoria, o quando un individuo osserva un'altra persona che esibisce un'azione motoria simile. In uno studio di risonanza magnetica[23], hanno misurato l'attivazione corticale durante il movimento senza uno specchio e durante il movimento con uno specchio. Due aree uniche del cervello sono state attivate, esclusivamente durante l'osservazione del movimento illusorio: la circonvoluzione temporale superiore e la circonvoluzione occipitale superiore. La circonvoluzione è associata con l'osservazione del movimento biologico e del sistema dei neuroni specchio e la circonvoluzione occipitale superiore riceve informazioni visive e successivamente li traduce in comandi motori. Questi studi hanno dimostrato di essere un punto di partenza per lo studio di questa pratica, applicata in diversi ambiti riabilitativi. Come la riabilitazione dell'arto fantasma e dell'emiparesi post-stroke.

Diversi studi hanno dimostrato che la MT nella riabilitazione dell'emiplegia ha una importanza nella riorganizzazione corticale in seguito ad ictus. Dohle et al. [24], hanno indagato se l'uso di uno specchio migliorerebbe la funzione motoria e sensoriale rispetto alla terapia con ictus convenzionale. Hanno scoperto che dopo sei settimane i pazienti che stavano usando la terapia speculare hanno riacquisito più funzione e sensazione delle estremità affette distalmente rispetto ai pazienti nel gruppo di controllo. Ci sono anche altri studi che hanno valutato gli effetti della mirror therapy servendosi dell'uso di strumenti neurofisiologici. Barturet al. [25] hanno studiato gli effetti tramite lo studio dell'attività corticale registrata dall'EEG e dei potenziali motori rilevati dall'EMG. È stato dimostrato come l'asimmetria dell'attività emisferica si riduceva con l'uso dell'MT, e che i pazienti con danni unilaterali mostravano una diffusa de-sincronizzazione delle onde beta dell'EEG durante il movimento dell'arto superiore non coinvolto con picchi nelle regioni parietali nella zona centrale ed anteriore. Uno studio condotto su volontari sani ha dimostrato anche delle differenze di genere nella risposta corticale alla MT [26]. Questo studio ha esaminato le risposte corticali di un gruppo di 25 volontari sani rilevate da un EEG ad alta definizione (126 canali). Hanno dimostrato, attraverso la strutturazione di diverse condizioni illusorie e tramite l'uso di stimolazioni tattili, che la plasticità corticale può essere indotta dall'illusione creata dalla mirror box. In particolare, negli uomini si è osservata una maggiore attivazione della corteccia cingolata nella condizione in cui veniva stimolato il pollice destro e il paziente guardava la sua mano sinistra riflessa. Ciò ci

suggerisce un'alterazione dell'immagine corporea percepita indotta da una situazione di incongruenza tra l'input visivo e la localizzazione della stimolazione tattile.

6 Materiali e Metodi

6.1 Partecipanti

Sono stati arruolati cinque pazienti destrimani con ictus in fase sub-acuta di cui: 2 pazienti presentavano emiparesi all'arto superiore di destra e lesione cerebrale sinistra, mentre 3 presentavano emiparesi dell'arto superiore di sinistra e lesione cerebrale destra (vedi tabella 1). Sono stati inclusi nello studio tutti i soggetti che hanno subito un evento cerebrale che sia di natura ischemica o emorragica. Inclusi altresì i soggetti con un punteggio di MMSE >15.. Dallo studio sono stati esclusi i soggetti che hanno ottenuto un punteggio di MMSE < 14, pazienti con disturbi di comprensione del linguaggio uditivo-verbale, soggetti con accertata diagnosi precedente di demenza, di gravi patologie neurologiche o di gravi disabilità infantili (vedi tabella 1). Il materiale utilizzato è stata una mirror box degli oggetti 2 spazzole che riproducevano la sensazione del liscio e del ruvido sul dorso della mano ed una spugna (vedi figura 1).

Tabella 1. *Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti.*

ID Pazienti	Sesso	Età	Lesione Cerebrale	Lato Plegico	Score MMSE
1	M	68	Nucleo capsulare destro	Sinistro	23,54
2	M	64	Nucleo capsulare sinistro	Destro	26
3	M	66	Parieto-temporale destro	Sinistro	17,49
4	M	51	Nucleo capsulare destro	Sinistro	26
5	M	64	Fronto-parietale sinistro	Destro	17

6.2 Procedure

L'esperimento consisteva in 1 seduta suddivisa in due fasi. In tutti i soggetti l'attivazione corticale è stata valutata attraverso i cambiamenti di emoglobina ossigenata durante i task-correlati rilevati con il sistema fNIRS. La prima fase consisteva nell'esecuzione del task, proposto al soggetto, mentre quest'ultimo osservava il movimento della sua mano sullo specchio (Fase Mirror), nel frattempo la mano plegica si trovava all'interno della mirror box dove il soggetto non poteva vederla. Nella seconda fase la registrazione

veniva effettuata nella stessa modalità, ma, lo specchio veniva ricoperto da un telo nero (Fase No Mirror). I soggetti hanno eseguito due tipologie di stimolazioni. Una tipologia che richiedeva l'attivazione motoria: finger tapping e grasping tramite l'uso di una spugna, l'altra richiedeva stimolazioni passive, più specificatamente: stimolazioni tattili tramite strumenti che riproducevano sensazioni di liscio e ruvido sul dorso della mano riflessa e contemporaneamente sulla mano immobile dentro il box. Il protocollo iniziava con una sessione di rest di 10 secondi, alternato per quattro volte al momento di attivazione di esecuzione del task di 25 secondi (vedi Figura 2).

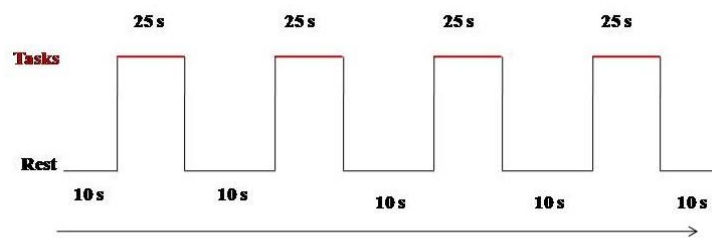


Figura 1. *Protocollo di stimolazione*

6.3 La Spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS)

La Spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS, NearInfraredSpectroscopy) è una tecnica non invasiva di neuroimaging, che misura la variazione di ossigenazione del tessuto cerebrale, attraverso i cambiamenti di stato ossigenativo dell'emoglobina (da emoglobina ossigenata [ossi-HB] a emoglobina deossigenata [deossi-HB]). Come la risonanza magnetica funzionale (fMRI), la fNIRS, si basa sul principio dell'accoppiamento neuro-vascolare: ovvero il rapporto tra flusso del sangue cerebrale e attività neurale. Attraverso questa metodica strumentale si valuteranno le attivazioni neuronali (maggiore consumo di ossigeno) durante vari stimoli e/o compiti.

La NIRS offre numerosi vantaggi: di facile applicazione, non invasiva, assenza di controindicazioni all'utilizzo, di rapido utilizzo. Inoltre, permette facilmente di combinare lo studio fNIRS con altre



Figura 2. *Mirror Box*

tecniche, quali l'elettroencefalogramma ad alta densità (EEG HD, 256ch), la Risonanza Magnetica (RMN) e la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS). Il primo studio pubblicato in letteratura (Hoshi e Tamura) evidenziava un cambiamento sostanziale del flusso (aumento del flusso ossi-HB e un decremento del flusso deossi-HB) nella corteccia pre-frontale bilateralmente durante task cognitivi in soggetti sani.

Oltre agli stimoli cognitivi, alcuni si sono focalizzati sullo studio tramite NIRS mediante task motori: dal semplice movimento delle dita, "finger tapping",

all'apprendimento di una sequenza motoria o al mantenimento di una posizione di equilibrio. I risultati di questi lavori hanno evidenziato un maggior flusso cerebrale nella corteccia sensorimotoria, pre-motoria, motoria e pre-frontale durante task motori. Per quanto riguarda il campo riabilitativo, alcuni studi condotti tramite fNIRS, hanno fornito prove per il contributo della compensazione corticale sensorimotoria primaria e pre-motoria ipsilaterale al danno, soprattutto nelle prime fasi dopo l'evento acuto, infatti vi era un afflusso maggiore dei livelli di emoglobina ossigenata rispetto alla corteccia affetta. Inoltre si è dimostrato che nelle settimane successive all'evento, il flusso nella corteccia affetta aumentò in parallelo ai miglioramenti clinici del paziente fornendo importanti indicazioni al trattamento riabilitativo del paziente [27, 28, 29].

7 Analisi Statistica

I dati sono stati acquisiti utilizzando un sistema Hitachi ETG-4100 NIRS, che utilizza la luce ad infrarossi per misurare le variazioni di concentrazione dei livelli di emoglobina ossigenata e deossigenata nel cervello, con una frequenza di campionamento di 10 Hz.

E' stata utilizzata una matrice di configurazione di 3 x 5 optodi, 8 sorgenti e 7 rivelatori, per un totale di 22 canali, posizionati sopra la fronte, per acquisire il segnale principalmente dalla corteccia prefrontale, motoria e parietale.

L'analisi dei dati è stata effettuata mediante il software NIRS-SPM (versione 4, revisione 1) [30, 31], tool di MATLAB® R2009a (MathWorksInc., Natick, MA).

7.1 Measurement model

Secondo la Modified Beer-Lambert Law (MBLL) [32], nell'ambito di un modello consolidato già applicato con successo in letteratura [33], ipotizziamo che i cromofori coinvolti siano ossi- e deossi-emoglobina (HbO e HbR, rispettivamente). Inoltre, il parametro DPF $d(r)$ può essere ottenuto, in linea di principio, in sistemi a dominio temporale o a dominio di frequenza, calcolando la funzione di diffusione dei punti temporali [34]. Inoltre, molte altre condizioni, come la profondità del cuoio capelluto e la conformazione della testa, possono influenzare negativamente *le misure ottenute dallo strumento*, con conseguenti effetti di dispersione *del segnale che* dipendono dal soggetto. Per tutte *queste variabili*, l'analisi dei dati NIRS può essere difficile, e *l'uso di un modello lineare generalizzato può dimostrarsi utile* per superare questi problemi.

Il modello lineare generalizzato (GLM) è oggi un metodo di analisi standard usato per la risonanza magnetica funzionale (fMRI), così come per il NIRS [35, 36]. Esso descrive una grandezza misurata in termini di una combinazione lineare di N variabili esplicative, più un termine di errore.

Il segnale può essere approssimato come la convoluzione di una funzione di stimolo e di una funzione di risposta emodinamica (HRF). Per la specifica del modello, è stata utilizzata la HRF canonica composta da due funzioni gamma [37].

Per questo modello si può calcolare un coefficiente t-statistico, come descritto in [38], per testare l'ipotesi nulla di nessuna attivazione significativa per un canale specifico rispetto ad una fase di riferimento (generalmente la fase di riposo). Nel nostro caso, abbiamo applicato questa analisi sia per HbO che per HbR, per ogni paziente separatamente, utilizzando la procedura disponibile nel software NIRS-SPM. Inoltre, abbiamo eseguito l'analisi di gruppo per i due gruppi di pazienti (plegia a destra e plegia a sinistra), utilizzando il metodo dell'allineamento globale delle mappe interpolate dei pazienti presenti nel software NIRS-SPM. Per il calcolo del valore p è stato utilizzato l'approccio delle caratteristiche attese di Eulero.

7.2 fNIRS data preprocessing

Prima di ogni ulteriore elaborazione, i dati fNIRS HbO e HbR sono stati filtrati con il filtro canonico HRF per rimuovere il rumore ad alta frequenza e le correlazioni temporali (il che significa che il segnale residuo nel momento specifico è correlato con i suoi vicini temporali). Ciò è stato fatto secondo il metodo di precolorazione, che si è dimostrato più efficace nel calcolare le mappe di attivazione rispetto al metodo di sbiancamento [38, 39]. Infine, è stata nuovamente eseguita la correzione della linea di base, sottraendo il nuovo valore della variazione di concentrazione al momento iniziale.

8 Risultati

Nel gruppo di pazienti con plegia destra i risultati mostrano un'attivazione corticale di entrambi gli emisferi nella condizione di Mirror, mentre, l'attivazione non risulta presente nella fase No Mirror. In particolare questa attivazione è visibile nei task motori di finger tapping e grasping. Nel gruppo di pazienti con plegia sinistra si possono notare attivazioni corticali significative in tutti i task anche nel lato cerebrale leso (lato destro) in fase Mirror. Questa attivazione di segnale non è significativa in fase No Mirror.

8.1 Attivazioni motorie gruppo sinistra e destra

Le mappe corticali basati sui cambiamenti del segnale di emoglobina ossigenata mostrano attivazioni cerebrali sia a sinistra che a destra di entrambi i gruppi (vedi figure 3 e 4, tabelle 2 e 3). Nel gruppo di pazienti con plegiadestra, che presentavano una lesione cerebrale sinistra, si sono evidenziate attivazioni del giro post centrale, superiore e del solco centrale sia a destra che a sinistra durante il task Grasping (vedi figura 3). Durante il task di Finger Tapping, in fase Mirror, è possibile osservare attivazioni del solco precentrale, post centrale e del giro superiore in entrambi gli emisferi. Mentre durante la fase No Mirror è possibile osservare attivazioni nel solco centrale e nel giro precentrale destro (vedi figura 4). I pazienti con plegiasinistra che presentavano lesioni cerebrali destre, nel task Grasping presentavano attivazioni cerebrali in entrambi gli emisferi nel solco centrale, giro precentrale e giro post centrale. Nel compito di Finger tapping l'attivazione si mostra più specifica e meno estesa ed intensa. Vengono infatti coinvolti il giro centrale, post centrale sinistro, in fase Mirror. In fase No Mirror le attivazioni sono poco significative e coinvolgono il giro post centrale sinistro (vedi figura 3).

8.2 Attivazioni con stimoli tattile gruppo sinistra e destra

Durante questo tipo di stimolazioni passive, in cui il soggetto cercava semplicemente di percepire il tipo di stimolazione che veniva somministrata, abbiamo rilevato che nel gruppo dei pazienti con plegiadestra le attivazioni sono maggiori nella fase Mirror e riguardano entrambi gli emisferi, in particolare sono evidenti significative attivazioni nel giro precentrale, nel solco centrale, post centrale e superiore. Questa attivazione svanisce in fase No Mirror, probabilmente per effetto della terapia (vedi figura 4 e tabella 3). Nei pazienti con plegiasinistra e lesioni cerebrali destre, le stimolazioni tattili hanno evidenziato attivazioni più selettive in termini di aree cerebrali attive. In particolare, il solco centrale e il giro precentrale a destra in fase Mirror, mentre il solco centrale sinistro, il giro post centrale, precentrale destro e sinistro erano le aree in cui si poteva osservare una attivazione cerebrale anche se in minima parte in termini di intensità di attivazione in fase No Mirror (vedi figura 3 e tabella 2).

Tabella 2. Aree corticali attive durante l'esecuzione dei task in fase Mirror gruppo plagia a sinistra

<i>Task</i>	<i>Area Cerebrale Attiva</i>	<i>Soglia T</i>	<i>p-value</i>
Stimolazione tattile "ruvido"	Solco centrale destro	3.0544	< 0.05
Stimolazione tattile "liscio"	Giro precentrale destro	2.1961	< 0.05
Grasping	Giro precentrale, post centrale, superiore destro e sinistro	2.3334	< 0.05
Finger Tapping	Giro centrale e post centrale sinistro	2.4213	< 0.05

Tabella 3. Aree corticali attive durante l'esecuzione dei task in fase Mirror gruppo plagia a destra

<i>Task</i>	<i>Area Cerebrale Attiva</i>	<i>Soglia T</i>	<i>p-value</i>
Stimolazione tattile "ruvido"	Giro precentrale, solco centrale, giro post centrale, superiore destro e sinistro	0.8334	< 0.05
Stimolazione tattile "liscio"	Giro precentrale, solco centrale, giro post centrale, superiore destro e sinistro	0.1509	< 0.05
Grasping	Giro postcentrale, solco centrale destro e sinistro	2.9333	< 0.05
Finger Tapping	Giro precentrale, giro post centrale sinistro, superiore e precentrale destro,	2.8952	< 0.05

Figura 3.Attivazioni cerebrali in fase Mirror e in fase No Mirror nel Gruppo con plegia a sinistra

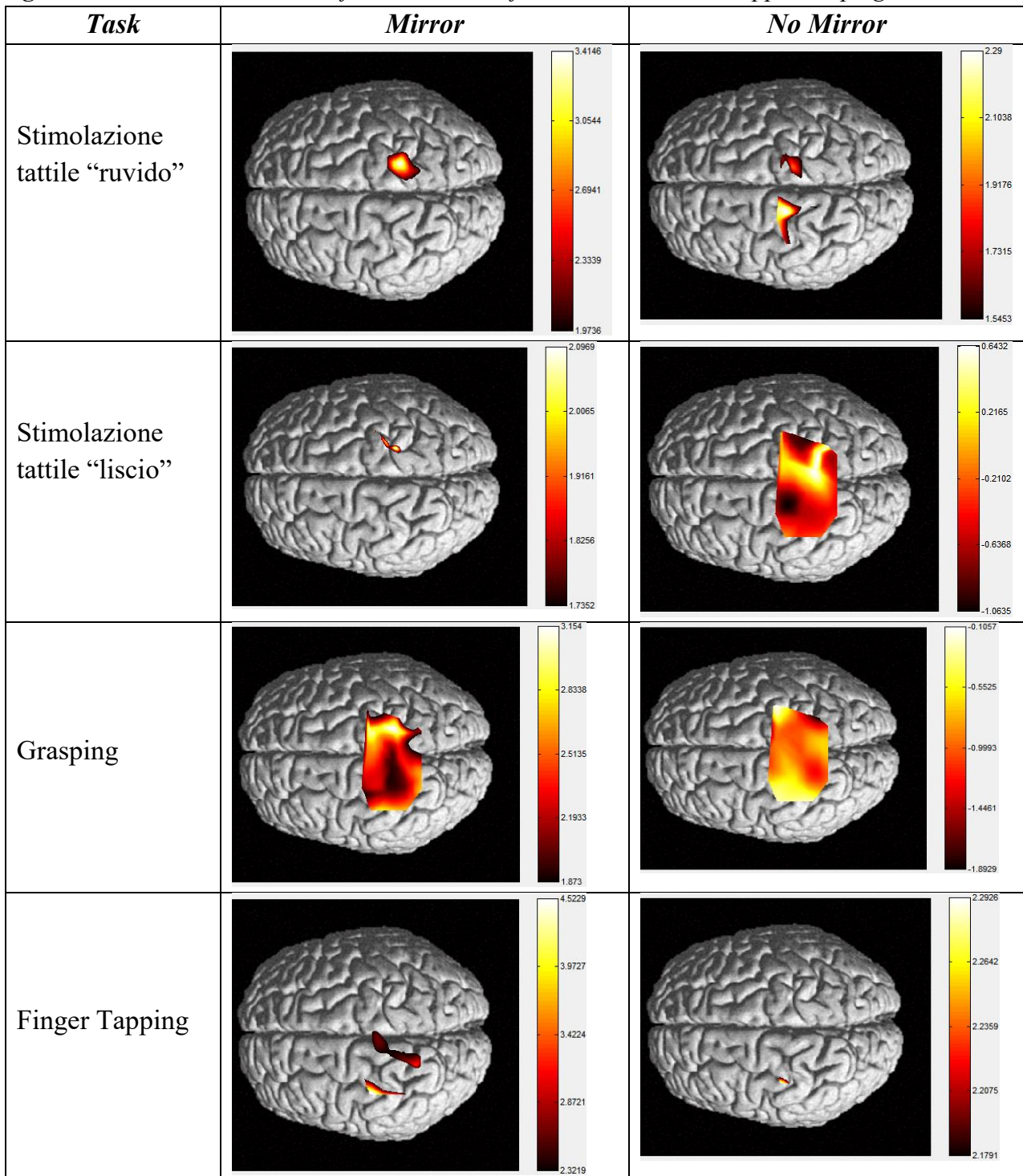
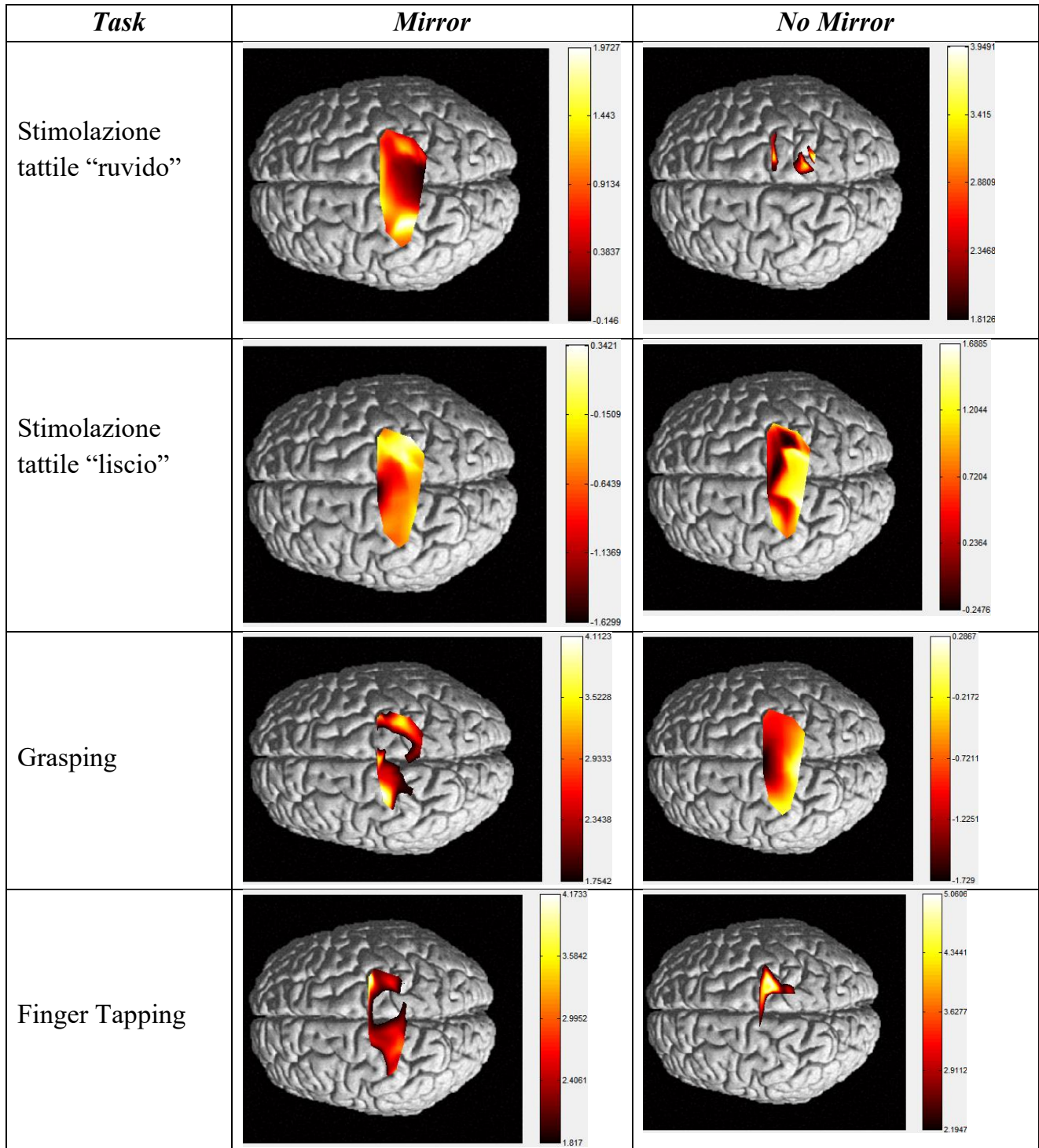


Figura 4. Attivazioni cerebrali in fase Mirror e in fase No Mirror nel Gruppo con plegia a destra



9 Discussione

L'obiettivo e lo scopo della Tesi di Dottorato è stato quello di mostrare il ruolo della MT in un progetto riabilitativo, utilizzando una tecnica non invasiva innovativa che ci ha permesso di misurare, i livelli di ossiemoglobina e deossiemoglobina abbinati a dei task cognitivo-motori specifici. I risultati hanno mostrato delle attivazioni cerebrali in aree che coinvolgono solchi centrali, pre-centrali e post-centrali. Le aree indicate corrispondono alle aree frontali motorie primarie, pre-motorie e le aree post-rolandiche o, più nello specifico, parietali ascendenti. Le attivazioni di questi circuiti neuronali ci dimostrano che, nonostante la lesione cerebrale coinvolga le aree motorie, queste vengono attivate anche solo attraverso il riflesso di un movimento allo specchio, creando al cervello una sorta di inganno. La differenza maggiormente evidente fra i due gruppi: nei pazienti con lesioni cerebrali destre le attivazioni sono visibili in maniera minore rispetto all'altro gruppo. Questo risultato potrebbe dipendere dal fatto che i pazienti reclutati nello studio erano destrimani e l'emisfero dominante si configura come il sinistro. Ciò mette in evidenza il ruolo significativo dell'emisfero sinistro nella pianificazione ed esecuzione di azioni motorie.

Nel gruppo con plegiadestra le attivazioni sono maggiori nell'esecuzione dei task "Grasping" e "Finger Tapping" durante la fase Mirror mentre sono meno significative nella fase no Mirror. L'illusione del riflesso allo specchio aiuta il sistema di riaraggiamento e rimodulazione dei circuiti motori normalmente coinvolti, in particolare reclutando non solo le aree in prossimità della lesione ma anche le aree adiacenti nell'emisfero controlesionale (vedi figura 3). Il fatto che, anche in fase No Mirror siano evidenti delle attivazioni cerebrali, potrebbe significare che quelle aree, che si sono attivate nella fase precedente, rimangono residualmente attive dopo i task eseguiti in Fase Mirror. Nel gruppo dei pazienti con plegiasinistra il task del "Grasping" (vedi figura 2) sembra aver dato maggiori risultati in termini di intensità di attivazione e di aree coinvolte, rispetto agli altri task. Come spiegato in precedenza, questo potrebbe dipendere dal fatto che la lesione riguardava le aree motorie dell'emisfero non dominante. Nonostante ciò, i livelli di ossiemoglobina si erano maggiormente presenti nelle aree motorie del lato lesionale e del lato controlaterale, anche se non sempre in modo significativo (vedi figura 2).

Il lavoro svolto ha riguardato lo studio di nuove linee guida per lo sviluppo di nuovi progetti riabilitativi che aumentano la possibilità per pazienti post-ictus di aumentare lo stimolo neuronale attraverso questo sistema al fine del recupero motorio in tempi più brevi.

Infatti, i risultati che abbiamo ottenuto e discusso mostrano sicuramente l'utilità riabilitativa della MirrorTherapy. Tuttavia ci sono dei limiti che vanno messi in evidenza: uno di questi è sicuramente il numero del campione che, per far ottenere una maggiore validità clinica a questo studio, va

ampliato e reso più uniforme in termini di genere, età e sindrome neurologica; il secondo limite è invece la difficoltà riscontrata nella fase di reclutamento di questi pazienti a causa dei numerosi deficit cognitivi che possono avere a seconda delle aree cerebrali colpite.

I risultati del lavoro hanno confermato l'ipotesi iniziale: la MirrorTherapy, applicata in pazienti post-ictus in fase subacuta, che presentavano una plegia agli arti superiori, favorisce la riorganizzazione, la rimodulazione corticale e riduce l'asimmetria dell'attività emisferica al fine di migliorare gli attuali sistemi riabilitativi ed integrare nella pratica clinica l'uso di questi strumenti.

Conclusioni

Per una maggiore prova e veridicità dei risultati ottenuti, il prossimo passo per le ricerche future potrebbe essere quello di impostare un training riabilitativo, durante la degenza dei pazienti, basato sui principi della MT così da valutare in due tempi, pre e post riabilitazione, l'efficacia di questo strumento riabilitativo.

Referenze

1. Johnson, W., Onuma, O., Owolabi, M., & Sachdev, S. (2016). Stroke: a global response is needed. *Bulletin of the World Health Organization*, 94(9), 634.
2. Katan, M., & Luft, A. (2018, April). Global burden of stroke. In *Seminars in neurology* (Vol. 38, No. 2, pp. 208-211). Georg Thieme Verlag.
3. Ictus cerebrale: Linee guida italiane di prevenzione e trattamento www.iso-spread.it
4. Pomeroy, V., Aglioti, S. M., Mark, V. W., McFarland, D., Stinear, C., Wolf, S. L., ... & Fitzpatrick, S. M. (2011). Neurological principles and rehabilitation of action disorders: rehabilitation interventions. *Neurorehabilitation and neural repair*, 25(5_suppl), 33S-43S.
5. Frey, S. H., Fogassi, L., Grafton, S., Picard, N., Rothwell, J. C., Schweighofer, N., ... & Fitzpatrick, S. M. (2011). Neurological principles and rehabilitation of action disorders: computation, anatomy, and physiology (CAP) model. *Neurorehabilitation and neural repair*, 25(5_suppl), 6S-20S.
6. Linee-guida del ministro della sanità per le attività di riabilitazione. *Gazzetta Ufficiale*, 124, 30 maggio 1998.
7. Krakauer, J. W. (2006). Motor learning: its relevance to stroke recovery and neurorehabilitation. *Current opinion in neurology*, 19(1), 84-90.
8. Poli, P., Morone, G., Rosati, G., & Masiero, S. (2013). Robotic technologies and rehabilitation: new tools for stroke patients' therapy. *BioMed Research International*, 2013.
9. Langhorne, P., Coupar, F., & Pollock, A. (2009). Motor recovery after stroke: a systematic review. *The Lancet Neurology*, 8(8), 741-754.
10. Rayegani, S. M., Raeissadat, S. A., Sedighipour, L., Mohammad Rezazadeh, I., Bahrami, M. H., Eliaspour, D., & Khosrawi, S. (2014). Effect of neurofeedback and electromyographic-

- biofeedback therapy on improving hand function in stroke patients. *Topics in stroke rehabilitation*, 21(2), 137-151.
11. J Liepert, H Blauder, W Miltner, E Taub, and C Weiller. Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans stroke. *Stroke*, 31:1210–1216, 2000.
 12. R J Nudo, B M Wise, F Sifuentes, and G W Milliken. Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science*, 272:1791–1794, 1996.
 13. Mascaro, A. L. A., Conti, E., Lai, S., Di Giovanna, A. P., Spalletti, C., Alia, C., ... & Caleo, M. (2017). Rehabilitation restores cortical activation profiles and stabilizes synaptic contacts after stroke. *bioRxiv*, 141697.
 14. Formica, C., De Salvo, S., Micchià, K., La Foresta, F., Dattola, S., Mammone, N., ... & Bramanti, A. (2020). Cortical Reorganization after Rehabilitation in a Patient with Conduction Aphasia Using High-Density EEG. *Applied Sciences*, 10(15), 5281.
 15. De Vries, S., & Mulder, T. (2007). Motor imagery and stroke rehabilitation: a critical discussion. *Journal of rehabilitation medicine*, 39(1), 5-13.
 16. Tani, M., Ono, Y., Matsubara, M., Ohmatsu, S., Yukawa, Y., Kohno, M., & Tominaga, T. (2018). Action observation facilitates motor cortical activity in patients with stroke and hemiplegia. *Neuroscience Research*, 133, 7-14.
 17. Yan, J., Guo, X., Jin, Z., Sun, J., Shen, L., & Tong, S. (2012). Cognitive alterations in motor imagery process after left hemispheric ischemic stroke. *PloSone*, 7(8), e42922.
 18. Hasan, M. A. (2014). *Quantitative EEG and neuromodulation for the treatment of central neuropathic pain in paraplegic patients* (Doctoral dissertation, University of Glasgow).
 19. Carvalho, D., Teixeira, S., Lucas, M., Yuan, T. F., Chaves, F., Peressutti, C., ... & Velasques, B. (2013). The mirror neuron system in post-stroke rehabilitation. *International archives of medicine*, 6(1), 41.

20. Rossiter, H. E., Borrelli, M. R., Borchert, R. J., Bradbury, D., & Ward, N. S. (2015). Cortical mechanisms of mirror therapy after stroke. *Neurorehabilitation and neural repair*, *29*(5), 444-452.
21. Tominaga, W., Matsubayashi, J., Deguchi, Y., Minami, C., Kinai, T., Nakamura, M., ... & Mitani, A. (2009). A mirror reflection of a hand modulates stimulus-induced 20-Hz activity. *Neuroimage*, *46*(2), 500-504.
22. Shinoura, N., Suzuki, Y., Watanabe, Y., Yamada, R., Tabei, Y., Saito, K., & Yagi, K. (2008). Mirror therapy activates outside of cerebellum and ipsilateral M1. *NeuroRehabilitation*, *23*(3), 245-252.
23. Matthys, K., Smits, M., Van der Geest, J. N., Van der Lugt, A., Seurinck, R., Stam, H. J., & Selles, R. W. (2009). Mirror-induced visual illusion of hand movements: a functional magnetic resonance imaging study. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, *90*(4), 675-681.
24. Dohle, C., Püllen, J., Nakaten, A., Küst, J., Rietz, C., & Karbe, H. (2009). Mirror therapy promotes recovery from severe hemiparesis: a randomized controlled trial. *Neurorehabilitation and neural repair*, *23*(3), 209-217.
25. Bartur, G., Pratt, H., Frenkel-Toledo, S., & Soroker, N. (2018). Neurophysiological effects of mirror visual feedback in stroke patients with unilateral hemispheric damage. *Brain research*, *1700*, 170-180.
26. Egsgaard, L. L., Petrini, L., Christoffersen, G., & Arendt-Nielsen, L. (2011). Cortical responses to the mirror box illusion: a high-resolution EEG study. *Experimental brain research*, *215*(3-4), 345-357.
27. Kato H, Izumiyama M, Koizumi H, Takahashi A, Itoyama Y. 2002 Near-infrared spectroscopic topography as a tool to monitor motor reorganization after hemiparetic stroke: a comparison with functional MRI. *Stroke*. Aug;33(8):2032-6

28. Miyai I, Yagura H, Hatakenaka M, Oda I, Konishi I, Kubota K. 2003 Longitudinal optical imaging study for locomotor recovery after stroke. *Stroke* Dec;34:2866-70
29. Strangman G, Goldstein R, Rauch SL, Stein J. 2006 Near-infrared spectroscopy and imaging for investigating stroke rehabilitation: test-retest reliability and review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil.* Dec;87(12 Suppl 2):S12-9.
30. Ye, J. C., Tak, S., Jang, K. E., Jung, J., & Jang, J. (2009). NIRS-SPM: statistical parametric mapping for near-infrared spectroscopy. *Neuroimage*, 44(2), 428-447.
31. Huppert, T. J. (2016). Commentary on the statistical properties of noise and its implication on general linear models in functional near-infrared spectroscopy. *Neurophotonics*, 3(1), 010401.
32. Kondru, C. J. (2013). Characterization and Comparison of Two Chromophore Determination Techniques: The Modified Beer-Lambert Law (MBLL) and Spatial-Frequency Domain Imaging (SFDI). University of California, Irvine.
33. Terenji, A., Willmann, S., Osterholz, J., Hering, P., & Schwarzmaier, H. J. (2005). Measurement of the coagulation dynamics of bovine liver using the modified microscopic Beer-Lambert law. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 36(5), 365-370.
34. Torricelli, A., Contini, D., Pifferi, A., Caffini, M., Re, R., Zucchelli, L., & Spinelli, L. (2014). Time domain functional NIRS imaging for human brain mapping. *Neuroimage*, 85, 28-50.
35. Hu, X. S., Hong, K. S., Shuzhi, S. G., & Jeong, M. Y. (2010). Kalman estimator-and general linear model-based on-line brain activation mapping by near-infrared spectroscopy. *Biomedical engineering online*, 9(1), 82.
36. Abdelnour, A. F., & Huppert, T. (2009). Real-time imaging of human brain function by near-infrared spectroscopy using an adaptive general linear model. *Neuroimage*, 46(1), 133-143.

37. Lindquist, M. A., Loh, J. M., Atlas, L. Y., & Wager, T. D. (2009). Modeling the hemodynamic response function in fMRI: efficiency, bias and mis-modeling. *Neuroimage*, 45(1), S187-S198.
38. Tak, S., & Ye, J. C. (2014). Statistical analysis of fNIRS data: a comprehensive review. *Neuroimage*, 85, 72-91.
39. Seghouane, A. K., & Ferrari, D. (2019). Robust hemodynamic response function estimation from fnirs signals. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 67(7), 1838-1848.

Ringraziamenti

Colgo l'occasione per ringraziare il Professore Bramanti, che mi ha accolta presso l'Istituto e che mi ha dato la possibilità di lavorare ed acquisire nuove conoscenze.

Ringrazio la Dottoressa Marino per la supervisione delle attività svolte in questi 3 anni.

Ringrazio la Dottoressa Bonanno e la Dottoressa De Salvo per essersi messe completamente a disposizione nel portare avanti il progetto di dottorato di ricerca.

Ringrazio il collega Francesco Corallo per il sostegno sia morale che professionale.

Grazie a tutti i medici del reparto che mi hanno accolta e dato la possibilità di lavorare con loro.

Ultimo, ma non meno importante ringraziamento per i più svariati motivi, Stefano e la mia famiglia.
Grazie.