



Università Campus Bio-Medico di Roma

Corso di Dottorato di Ricerca in  
Scienze Biomediche integrate e Bioetica  
“Scienze dell’invecchiamento e della rigenerazione tissutale”  
XXIX ciclo A.A. 2013-2014

TESI:

**MODULAZIONE DELLA PLASTICITA'  
CEREBRALE PER IL RECUPERO MOTORIO  
DELL'ARTO SUPERIORE NELL'ICTUS  
ISCHEMICO CRONICO**

Dottoranda  
Dott.ssa Lucia Florio

Coordinatore  
Prof. Paolo Pozzilli

Tutor  
Prof. Vincenzo Di Lazzaro

## **INDICE**

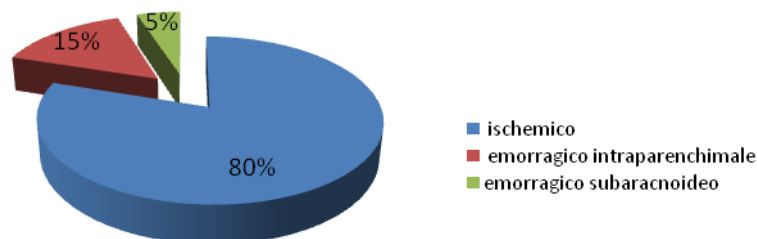
<b>ICTUS CEREBRALE</b>	3
Definizione ed epidemiologia	3
Basi fisiopatologiche dell'ischemia cerebrale	5
Diagnosi e terapia nel paziente in fase acuta	8
Approccio riabilitativo al paziente con ictus cerebrale in fase acuta	11
Approccio riabilitativo al paziente con ictus cerebrale in fase cronica	12
<b>FENOMENI DI PLASTICITA' CEREBRALE</b>	14
<b>STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA</b>	17
Cenni storici	17
Principi fisici della TMS	18
Effetti fisiologici indotti dalla stimolazione magnetica transcranica	21
Principi di applicazione della TMS	22
Applicazione della rTMS nella riabilitazione motoria post-ictus	26
<b>SISTEMI ROBOTICI E RIABILITAZIONE MOTORIA</b>	29
<b>STUDIO SPERIMENTALE</b>	34
Razionale	34
Materiali e metodi	36
Pazienti	36
Disegno sperimentale	38
Stimolazione magnetica transcranica	40
Terapia robotica	41
Statistica	45
Risultati	46
Discussione	52
Conclusioni	56
<b>APPENDICE</b>	57
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	64

## ICTUS CEREBRALE

### Definizione ed epidemiologia

Secondo la definizione dell'OMS, l'ictus cerebrale (o *stroke*) rappresenta una sindrome clinica a patogenesi vascolare caratterizzata dall'improvviso e rapido sviluppo di segni e sintomi di durata superiore a 24 ore, riferibili a deficit neurologico focale. I sintomi neurologici si manifestano nel giro di pochi secondi e il deficit neurologico può rimanere stabile, migliorare rapidamente o subire un progressivo peggioramento.

L'80% dei casi di ictus è causato dalla riduzione o interruzione del flusso ematico a livello cerebrale (ictus ischemico); nel restante 20% dei casi l'ictus è emorragico ed è ulteriormente distinguibile in intraparenchimale (15%) e subaracnoideo (5-10%).



Tale primaria classificazione viene considerata di cruciale importanza per la gestione clinica del paziente, ma soprattutto per la scelta terapeutica nella fase acuta.

Nei paesi industrializzati l'ictus cerebrale è responsabile del 10-12% dei decessi per anno e rappresenta la terza causa di morte, preceduto solo dalle malattie cardiovascolari e dalle neoplasie. Nella popolazione

adulta, rappresenta, inoltre, la principale causa di disabilità, la seconda causa di demenza e un fattore causale non trascurabile di depressione.

In Italia si verificano ogni anno circa 200.000 nuovi ictus: di questi circa l'80% è rappresentato da nuovi episodi, il 20% da recidive. L'incidenza media è di 220 casi ogni 100.000 abitanti per anno. Tali dati sono ovviamente destinati a crescere ulteriormente a causa dell'aumento della vita media.

In Italia il tasso di mortalità dopo ictus ischemico è pari al 20% circa a 30 giorni e sale al 30% ad un anno. Ad un anno dall'evento acuto, circa un terzo dei pazienti sopravvissuti ad uno stroke presenta un grado di disabilità medio-alto, risultando totalmente o parzialmente dipendente nelle attività della vita quotidiana.

Questi dati danno una stima della rilevanza della patologia cerebrovascolare in termini di assorbimento di risorse, sia per la cura della fase acuta, sia per la riabilitazione e per il supporto socio-assistenziale della disabilità acquisita.

Negli ultimi anni si insiste sempre di più sull'inquadramento dell'ictus come problema sanitario globalmente inteso, per il quale è indispensabile un percorso assistenziale articolato su varie componenti:

- informazione e incremento della consapevolezza nella popolazione che l'ictus è prevenibile ed efficacemente trattabile se gestito come emergenza;
- prevenzione primaria, intesa come individuazione precoce e trattamento dei fattori di rischio modificabili;
- gestione della fase acuta, secondo un percorso integrato che inizia dal riconoscimento dell'evento acuto e dall'attivazione del Servizio di Emergenza/Urgenza Territoriale (118) e giunge al ricovero ospedaliero in area di degenza dedicata e qualificata;

- prevenzione delle complicanze mediche in fase acuta e subacuta;
- prevenzione secondaria delle recidive;
- garanzia di continuità assistenziale con il progetto riabilitativo, in regime di ricovero e/o ambulatoriale, nel post-acuzie;
- assistenza sanitaria e sociale per le persone sopravvissute all'ictus con disabilità rilevante.

### **Basi fisiopatologiche dell'ischemia cerebrale**

L'ictus ischemico è sempre causato da un'occlusione arteriosa, che determina riduzione o assenza del flusso ematico nel territorio vascolare interessato. L'ampiezza dell'ipoperfusione cerebrale dipende dall'entità, dalla sede e dal tempo di occlusione e dal grado di compenso del circolo arterioso collaterale. Infatti il cervello, in condizioni fisiologiche, utilizza il catabolismo ossidativo del glucosio per produrre energia, che viene utilizzata istante per istante dalle cellule. L'attività e la sopravvivenza del tessuto cerebrale, in assenza di depositi energetici cellulari, dipendono dal continuo apporto di substrati energetici (*Astrup et al, 1981; Paulson et al, 1990*).

Quando il flusso ematico cerebrale (*CBF*) diminuisce al di sotto di determinati valori soglia (20 ml/100 mg/min), si innesca rapidamente la cascata di eventi biochimici e strutturali che conduce alla necrosi della cellula neuronale (*Lennet et al, 1996*):

- riduzione di molecole ad elevato contenuto energetico, derivanti dal metabolismo ossidativo del glucosio;
- accumulo intracellulare di acido lattico e anidride carbonica, derivanti dalla glicolisi anaerobica;

- rapido aumento del calcio intracellulare a causa del danno alle pompe ioniche ATP-asi dipendenti;
- rilascio di radicali liberi e citochine;
- danno alle strutture sinaptiche, con rilascio massivo di aminoacidi eccitatori neurotossici (glutammato e acido gamma-aminobutirrico);
- edema citotossico, provocato dallo spostamento di acqua dallo spazio extra allo spazio intracellulare a seguito delle alterazioni strutturali delle membrane neuronali;
- edema vasogenico, provocato dalla vasodilatazione e dalla rottura della barriera emato-encefalica.

Da un punto di vista anatomopatologico, l'evoluzione nel tempo dell'area ischemica può essere schematizzata come segue:

- 1) a 2 h dall'interruzione del flusso ematico al tessuto cerebrale, l'edema citotossico diviene apprezzabile a livello microscopico;
- 2) a 12 h l'edema citotossico diviene individuabile anche a livello macroscopico, in maniera più precoce e più evidente a livello sottocorticale (nel complesso caudato/putamen);
- 3) nel frattempo, a 6 h dall'ischemia, inizia l'edema vasogenico, secondario al danno della barriera ematoencefalica;
- 4) dopo 72-96 h l'edema vasogenico aumenta e, nelle lesioni interessanti un più ampio territorio vascolare, determina effetto massa sulle strutture cerebrali
- 5) dal IV giorno dopo l'ictus, l'edema vasogenico inizia lentamente a decrescere.

Il passaggio dall'ischemia all'infarto dipende ovviamente dalla severità e dalla durata della riduzione di flusso ematico, ma è influenzata anche da

altri fattori, in primo luogo dalla maggiore vulnerabilità di alcune popolazioni neuronali specifiche e le condizioni fisiologiche del tessuto durante l'eventuale riperfusione.

Nei modelli sperimentali di ischemia focale, intorno ad un nucleo di necrosi (*core*) che si instaura in pochi minuti, è riconoscibile una porzione di tessuto (penombra ischemica) con funzione alterata, ma priva di danni morfologici e ancora vitale grazie alla presenza di circoli arteriosi collaterali. L'area di penombra evolve successivamente verso l'infarto o il recupero funzionale, se non si interviene con un efficace ripristino della perfusione ematica. La penombra è a sua volta circondata da un margine di oligoemia benigna, un'area tissutale con ipoperfusione non critica per la sopravvivenza cellulare.

La zona di penombra ha una potenzialità di recupero limitata ad un intervallo di tempo, comunemente indicato "finestra temporale" e inversamente correlato alle dimensioni della penombra stessa, entro il quale è ancora possibile ripristinare le normali condizioni di perfusione. È fondamentale che la riperfusione del tessuto avvenga il più precocemente possibile, al fine di evitare il cosiddetto fenomeno del "danno da riperfusione", che può provocare un ulteriore aggravamento ed estensione del tessuto ischemico o la comparsa di fenomeni emorragici all'interno della lesione.

I modelli neurofisiopatologici sopradescritti sono stati il razionale per l'introduzione, relativamente recente, dei protocolli di rivascolarizzazione cerebrale con terapia fibrinolitica, sviluppati allo scopo di ottenere la riperfusione dell'area di penombra, limitando il danno ischemico acuto (*Hill et al, 1998*).

## **Diagnosi e terapia nel paziente in fase acuta**

L'approccio clinico al paziente con sospetto ictus cerebrale deve essere immediato. Gli obiettivi di un inquadramento clinico precoce sono:

- definire l'ora di esordio dei sintomi con la maggiore accuratezza possibile (con particolare riguardo nel caso di sintomi esorditi al risveglio – *wake-up stroke*);
- stabilire che la causa del deficit neurologico sia di natura vascolare e considerare eventuali ipotesi alternative (diagnosi differenziale con emorragia cerebrale, neoformazione cerebrale, processi infettivi, disturbi metabolici, crisi comiziale);
- definire il territorio arterioso (carotideo o vertebrobasilare) ai fini diagnostici, prognostici e terapeutici e tentare la definizione del sottotipo patogenetico;
- misurare la gravità del quadro clinico, mediante l'uso di scale neurologiche, sia a fini prognostici che per il monitoraggio clinico delle ore successive;
- valutare la potenziale evoluzione spontanea del quadro clinico neurologico;
- definire precocemente il rischio di complicanze mediche o neurologiche e riconoscerle al fine di prevenirle e trattarle adeguatamente;
- avviare in maniera tempestiva la terapia più appropriata e in particolare definire l'eleggibilità del paziente al trattamento di rivascolarizzazione con trombolisi sistemica.

L'esordio clinico è generalmente improvviso, con deficit neurologico che, a seconda del territorio vascolare interessato, sarà diffuso o focale,



completo o parziale, con potenzialità di progressione nelle ore successive. Lo spettro delle presentazioni cliniche della malattia cerebrovascolare è, pertanto, molto ampio: si passa dal paziente asintomatico/paucisintomatico a quadri clinici con grave disabilità e prognosi infausta fin dall'esordio.

Nella pratica clinica, per quantificare la gravità del deficit neurologico nell'ictus cerebrale, viene universalmente utilizzata la scala *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS): la sua semplicità di somministrazione la rende di estrema utilità anche per il monitoraggio clinico del paziente nelle ore successive. Inoltre il punteggio NIHSS correla con la dimensione della lesione all'indagine neuroradiologica ed assume un importante valore prognostico, influenzando le decisioni terapeutiche (v. Appendice).

Le metodiche radiologiche utilizzate nell'iter diagnostico del paziente cerebrovascolare sono rappresentate dalla Tomografia Computerizzata (TC) e dalla Risonanza Magnetica (RM). Un ruolo secondario è svolto dalle metodiche ultrasonografiche (ecocolordoppler dei tronchi sovraortici; ecodoppler transcranico). Un approccio diagnostico neuroradiologico completo al paziente con ictus acuto dovrebbe infatti comprendere (*Latchaw et al, 2009*):

- esclusione della natura emorragica dello stroke;
- individuazione dei segni parenchimali di ischemia;
- differenziazione del tessuto infartuato dal tessuto "salvabile";
- identificazione della sede di occlusione vascolare;
- predizione della prognosi clinica.

La maggior parte dei trials clinici sullo stroke ischemico si sono rivolti all'uso endovenoso in fase acuta di rTPA, il quale è stato approvato dalla Food and Drugs Administration (FDA) dapprima per la

terapia dell'infarto miocardico (1987), successivamente per l'embolia polmonare massiva (1990) e infine per il trattamento in acuto dell'ischemia cerebrale (1996). Lo studio NINDS (National Institute of Neurological Disorders and Stroke) del 1995 è stato il primo trial randomizzato a dimostrare la reale efficacia e sicurezza dell'rTPA , inaugurando l'inizio di una vera e propria rivoluzione nella gestione dell'ictus ischemico acuto.

Attualmente la trombolisi endovenosa viene effettuata in centri selezionati con somministrazione di r-TPA entro 4,5 ore dall'esordio dei sintomi, secondo il seguente protocollo: 0,9 mg/kg (dose massima 90 mg), di cui il 10% in bolo e il rimanente 90% in infusione continua nell'arco di 60 minuti. La somministrazione sicura del trattamento trombolitico richiede una accurata selezione dei pazienti, secondo criteri di esclusione atti ad ottimizzare il rapporto rischio/beneficio del trattamento.

Il recente progresso delle metodiche di imaging vascolare real-time (angiografia) e l'introduzione di nuovi devices endovascolari hanno suscitato negli ultimi anni grande interesse ed entusiasmo per le terapie di rivascularizzazione cerebrale con metodica endovascolare.

Sebbene il trattamento endovascolare, in mani esperte, possa garantire un minor rischio di emorragie sistemiche rispetto alla terapia endovenosa convenzionale, non si possono trascurare altri aspetti negativi di questa metodica: maggiore invasività dell'accesso arterioso, intolleranza al mezzo di contrasto, problemi legati all'anestesia e complicanze determinate dall'utilizzo del device. Tali motivazioni rendono la trombolisi per via endovenosa il trattamento di scelta nell'ictus ischemico acuto.

L'indicazione all'approccio endovascolare sussiste, limitatamente ai centri con provata esperienza di neuroradiologia interventistica, in caso di occlusione dei tronchi arteriosi maggiori (tratto intracranica dell'arteria carotide interna, tronco principale dell'arteria cerebrale media, arteria basilare), se associate ad un quadro clinico predittivo di elevato rischio di morte o di gravi esiti funzionali, come terapia secondaria ad un trattamento trombolitico endovenoso inefficace.

La fase acuta dell'ictus ischemico rappresenta una delle condizioni neurologiche più delicate, sia per il rischio di recidiva ischemica, sia per l'incidenza di complicanze sia internistiche che più strettamente neurologiche (*Edward et al, 2013*).

Le complicanze neurologiche più frequenti nella fase acuta sono rappresentate dall'edema cerebrale e dalla trasformazione emorragica dell'infarto. Circa il 25% dei pazienti va incontro ad un peggioramento neurologico nell'arco delle prime 24-48 ore dall'evento acuto e un rimanente 10% nelle successive 72 ore: le funzioni vitali e i sintomi/segni neurologici vanno pertanto strettamente monitorati per tutta la fase di stabilizzazione.

Un'adeguata terapia antiaggregante/anticoagulante di prevenzione secondaria deve essere impostata precocemente.

### **Approccio riabilitativo al paziente con ictus cerebrale in fase acuta**

Dai dati epidemiologici sulla disabilità nei pazienti sopravvissuti a ictus cerebrale, emerge l'importanza di affiancare a una corretta gestione della fase acuta dell'ictus un efficace programma di riabilitazione.

Il percorso riabilitativo dopo l'ictus deve avere come obiettivo il raggiungimento della migliore qualità di vita possibile per i pazienti, con

particolare attenzione alle problematiche psicosociali che questa patologia comporta.

Non vi è un parere unanime sulla tempistica dell'inizio del progetto riabilitativo nel paziente in fase acuta: il rationale di un inizio precoce della riabilitazione (da 1-2 giorni a 1-2 settimane dall'evento) sta nell'ottimo outcome ottenuto in pazienti mobilizzati entro 24 ore dall'evento e nei rischi che comporta l'allettamento; d'altro canto una precoce mobilizzazione può avere effetti negativi nei pazienti maggiormente compromessi dal punto di vista internistico (*Dewey et al, 2007*).

È fondamentale l'individuazione precoce delle funzioni compromesse, al fine di pianificare l'adeguato progetto riabilitativo, personalizzato per ogni paziente.

Il trattamento deve essere rivolto sia verso il deficit primario risultante dall'ictus, sia verso le sue complicanze (polmoniti ab ingestis causate da disfagia, dolore cronico post-ictus, sviluppo di spasticità, incontinenza sfinterica).

### **Approccio riabilitativo al paziente con ictus cerebrale in fase cronica**

Il grado di disabilità successivo ad un evento cerebrovascolare è molto elevato: infatti secondo una stima dell'americana Agency for Health Care Policy and Research, il 25-50% dei soggetti dei sopravvissuti all'evento acuto presenta delle sequele disabilitanti nelle attività di vita quotidiana e necessita pertanto di un trattamento riabilitativo (*Gresham et al, 1995*).

La riabilitazione può essere definita come un processo educativo e di soluzione dei problemi, finalizzato a ridurre la disabilità e l'handicap

subiti dall'individuo come conseguenza di una malattia, nell'ambito delle limitazioni imposte sia dalle risorse disponibili che dalla patologia sottostante (*Wade, 1996*).

Per evitare le complicanze connesse con l'immobilità, è necessario che il processo riabilitativo inizi immediatamente dopo la fase acuta. Le linee guida italiane SPREAD evidenziano che, dopo la dimissione dai reparti di degenza ospedalieri, è indicato un piano riabilitativo-assistenziale in strutture specializzate da parte di un'equipe plurispecialistica composta da personale dedicato (*Zaninelli et al, 2010*).

Il ricovero in reparti di riabilitazione è indicato soprattutto nei pazienti gravi o medio-gravi. Nel caso in cui i deficit residui siano lievi, il trattamento stesso può essere praticato in regime ambulatoriale o presso il domicilio stesso del paziente.

In Italia l'accesso alle degenze riabilitative generalmente è riservato ai casi con maggiore compromissione clinica; il 12-14% circa dei pazienti ricoverati per ictus pratica una riabilitazione ospedaliera (*Gerzeli et al., 2005; Sciolla et al., 2005*).

Le tradizionali metodiche adottate a fini riabilitativi sono eterogenee e, nonostante la costante applicazione in ambito neurologico, la letteratura non è in grado di definire fino in fondo quale sia il trattamento ottimale e quale sia la metodica specifica da preferire per ciascuna tipologia di paziente affetto da ischemia cerebrale (*Pollock et al., 2007*). È stata proprio questa incertezza a stimolare la ricerca e lo sviluppo di nuove tecniche e metodiche (farmacologiche e neurofisiologiche), in grado di integrare e migliorare l'efficacia dell'approccio riabilitativo classico.

## **FENOMENI DI PLASTICITA' CEREBRALE**

Per plasticità cerebrale si intende la capacità del cervello di modificare la sua funzione e struttura in risposta all'esperienza e all'ambiente circostante.

Uno dei principali meccanismi su cui si basa tale fenomeno è rappresentato dalla plasticità sinaptica, intesa come capacità di modificare l'efficienza ed il numero delle connessioni sinaptiche tra i neuroni. La plasticità sinaptica rappresenta il correlato cellulare di molti processi cognitivi, inclusi l'apprendimento e la memoria.

I principali meccanismi di plasticità sinaptica sono rappresentati dal potenziamento a lungo termine (Long Term Potentiation o LTP) e dalla depressione a lungo termine (Long Term Depression o LTD).

Per LTP si intende in neurobiologia un aumento a lungo termine nella trasmissione sinaptica tra due neuroni, che si ottiene mediante stimolazione ripetuta ad alta frequenza: tale processo fisiologico è caratterizzato da una serie di modificazioni molecolari della funzione e della microstruttura di una o più giunzioni sinaitiche.

Il fenomeno della LTP è stato descritto per la prima volta nel 1973 da Bliss e Lomo, dimostrando che l'applicazione di treni di stimoli ad alta frequenza alle vie afferenti ippocampali, è in grado di generare un aumento dell'ampiezza dei potenziali postsinaptici eccitatori che può durare da alcune ore ad alcuni giorni.

Per indurre un potenziamento a lungo termine è necessario che la membrana postsinaptica venga depolarizzata nell'intervallo di tempo in cui il terminale pre-sinaptico libera glutammato. Nel corso della normale trasmissione sinaptica a bassa frequenza, il glutammato viene liberato

dalle terminazione presinaptiche ed agisce sia sui recettori NMDA che su quelli non-NMDA.

I recettori non-NMDA sono del tipo AMPA.  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , tuttavia passano soltanto attraverso i canali non-NMDA e non in quelli NMDA in quanto, al potenziale di riposo di membrana, i recettori canali NMDA sono bloccati dal  $\text{Mg}^{2+}$ . Quando la membrana postsinaptica viene depolarizzata dall'azione dei recettori-canali non-NMDA, la depolarizzazione toglie il blocco degli ioni  $\text{Mg}^{2+}$  ai canali NMDA. Ciò consente il flusso di  $\text{Ca}^{2+}$  attraverso questi canali. L'aumento di  $\text{Ca}^{2+}$  che ne consegue a livello delle spine dendritiche, attiva le chinasi  $\text{Ca}^{2+}$  dipendenti e la tirosin-chinasi Fyn la cui azione congiunta determina la comparsa di LTP. Le chinasi  $\text{Ca}^{2+}$  dipendenti fosforilano i recettori-canali non-NMDA ed aumentano la loro sensibilità verso il glutammato, attivando anche altri recettori-canali normalmente inattivi. Queste modificazioni forniscono un valido contributo per il mantenimento di LTP. Inoltre, si ritiene che la cellula postsinaptica, dopo l'induzione dell'LTP liberi un gruppo di messaggeri retrogradi, uno dei quali potrebbe essere l'ossido nitrico, che agiscono sulle chinasi presenti nella terminazione presinaptica, dando origine ad un persistente aumento della liberazione di neurotrasmettitore che consente il mantenimento dell'LTP. Il fenomeno della LTD consiste invece nella riduzione attività-dipendente dell'efficacia delle sinapsi neuronali, della durata di ore o giorni, prodotta in seguito ad un lungo pattern di stimoli che si verifica con meccanismi differenti in diverse aree del sistema nervoso centrale (*Massey et al, 2007*). Il neurotrasmettitore più coinvolto nella LTD è il glutammato. Si ritiene che la LTD derivi principalmente da una diminuzione della densità dei recettori post-sinaptici, anche se un ruolo significativo potrebbe essere svolto dalla riduzione della liberazione del

neurotrasmettitore a livello presinaptico. Si è ipotizzato ad esempio che la LTD cerebellare sia importante per l'apprendimento motorio mentre quella ippocampale sia importante per la memoria (*Malleret et al, 2010*).

La LTD è un processo neurobiologico che serve a ridurre selettivamente l'efficienza di sinapsi specifiche e mantenere un equilibrio omeostatico all'interno del sistema. Infatti un livello eccessivo di LTP potrebbe inibire la codifica di nuove informazioni.



## **STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA**

### **Cenni storici**

Il percorso che ha portato allo sviluppo dell'attuale tecnica della stimolazione magnetica transcranica è iniziato più di 50 anni fa, con i primi tentativi di stimolare la corteccia cerebrale attraverso lo scalpo intatto, usando treni di stimoli elettrici analoghi a quelli che fino ad allora venivano applicati direttamente sulla corteccia cerebrale di soggetti sottoposti a interventi neurochirurgici (*Gualtierotti et al, 1954*).

Nel 1980 Merton e Morton furono i primi ad applicare singoli stimoli elettrici di alto voltaggio (2000 Volt) e breve durata (50-100 microsecondi) in corrispondenza della corteccia motoria primaria, al fine di studiare la conduzione nervosa centrale e di elicitarne potenziali evocati dall'area corticale motoria.

Questa metodica, chiamata stimolazione elettrica transcranica (TES), presentava però un inconveniente: soltanto una piccola frazione di corrente elettrica riusciva a penetrare le strutture cutanee, sottocutanee, muscolari ed ossee raggiungendo le strutture eccitabili cerebrali, mentre la maggior parte si disperdeva tra gli elettrodi stimolanti producendo la contrazione dei muscoli dello scalpo e l'attivazione delle fibre nocicettive, determinando di conseguenza parestesie e intenso dolore per il paziente stimolato.

Nel 1985 l'introduzione della tecnica stimolazione magnetica transcranica da parte di Barker (Università di Sheffield UK) ha permesso di superare questi limiti, dimostrandosi una metodica di stimolazione corticale non invasiva, sicura e soprattutto non dolorosa e aprendo la strada allo studio della corteccia motoria e delle vie cortico-spinali.

## **Principi fisici della TMS**

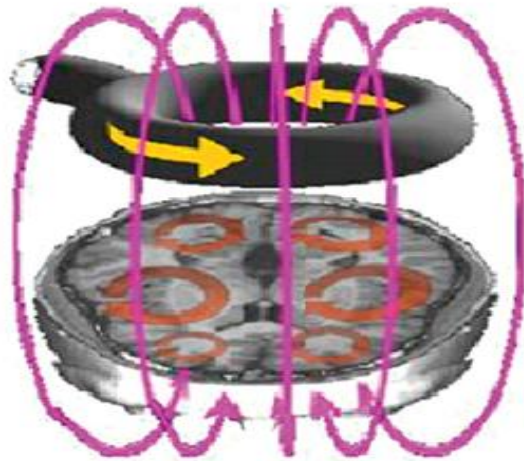
Il principio fisico alla base della stimolazione magnetica transcranica (TMS) è l'induzione elettromagnetica regolata dalla legge di Faraday: una corrente elettrica alternata che attraversa un circuito primario (costituito dal coil) induce un campo magnetico e quindi un flusso di corrente in un circuito secondario (la corteccia cerebrale).

Il campo magnetico è orientato perpendicolarmente al suo campo elettrico, seguendo la cosiddetta "legge della mano destra" (il dito pollice indica la direzione della corrente elettrica lungo il cavo, mentre le altre dita forniscono la direzione rotatoria del campo magnetico attorno al cavo stesso).

Lo stimolatore magnetico utilizzato per la TMS è costituito di 2 parti:

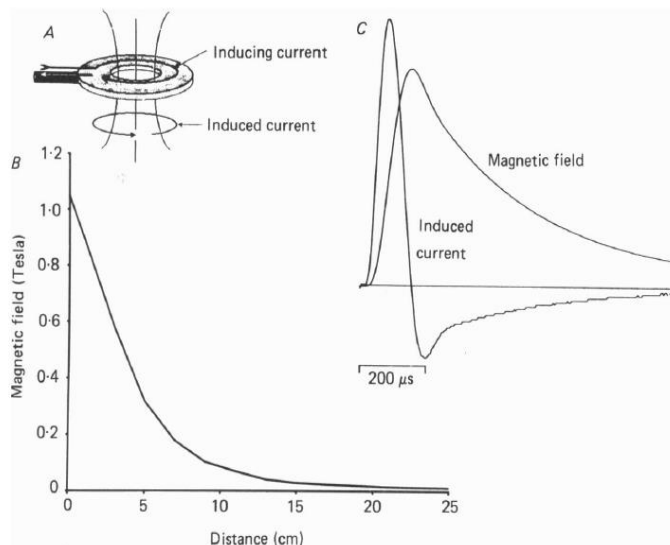
- un generatore e accumulatore di corrente, capace di generare corrente elettrica con amperaggio pari o maggiore a 5000 Ampere;
- una serpentina di rame denominata coil, la quale induce un campo magnetico ad alta energia (2-2,5 Tesla) e di breve durata (180-800  $\mu$ sec) con linee di flusso perpendicolari al piano del coil.

Il campo magnetico, a differenza di un campo elettrico, non subisce attenuazione nell'attraversamento dello scalpo e del tavolo osseo e a sua volta determina un flusso di corrente al di sotto del coil di intensità proporzionale alla conduttività del tessuto attraversato e all'intensità dello stimolo iniziale.



*Distribuzione delle linee del campo elettrico e del campo magnetico*

Il campo magnetico decade rapidamente in funzione della distanza dal coil. (*Hess et al, 1987*)



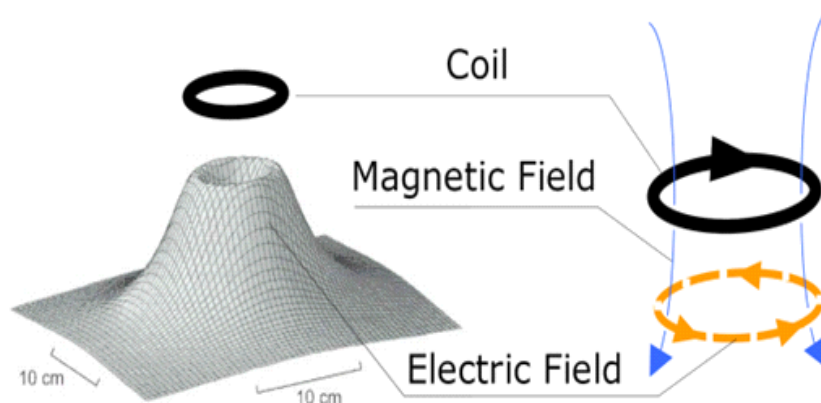
*a) Diagramma del coil che mostra la direzione della corrente inducente ed indotta; b) La diminuzione della forza del campo magnetico è proporzionale alla distanza dal centro del coil; c) Relazione temporale tra campo magnetico e corrente indotta.*

Partendo dal presupposto che la corteccia cerebrale è posta a 1-2 centimetri dalla superficie dello scalpo e che il solco centrale è profondo

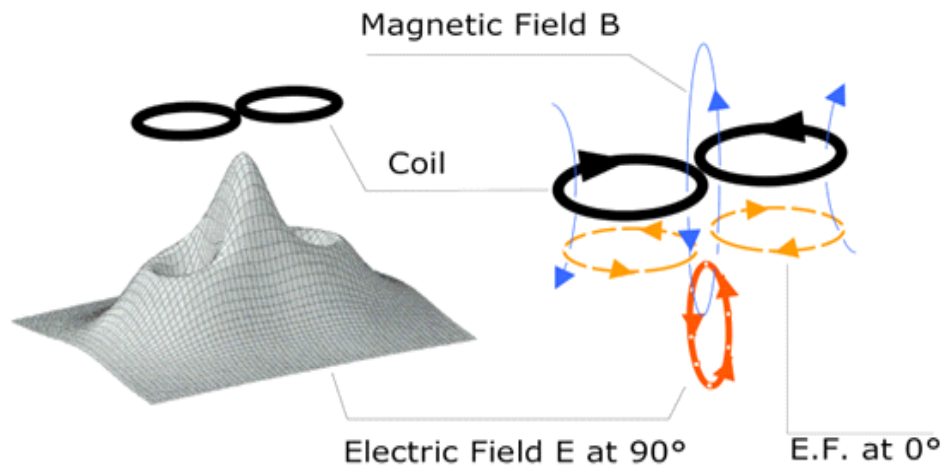
quasi 2 centimetri, è intuitivo che la TMS non permette di stimolare le strutture profonde, quali il talamo e i gangli della base, con intensità di campo pari a quella applicata a livello corticale. Inoltre, la sostanza bianca, data la presenza della mielina, ha una resistenza maggiore rispetto ai neuroni corticali, ragione per cui la corrente che giunge a livello sottocorticale avrà un'intensità molto bassa. La TMS può pertanto essere considerata attualmente una tecnica elettiva di stimolazione della corteccia cerebrale, ma non delle aree sottocorticali corrispondenti.

La distribuzione spaziale del campo elettrico indotto dalla TMS dipende dalla forma, dalla posizione e dall'orientamento del coil, ma anche dalla conduttività elettrica delle strutture cerebrali.

I primi coil utilizzati in ambito sperimentale presentavano una forma circolare e permettevano di stimolare aree corticali estremamente estese, generando correnti elettriche massime nel tessuto immediatamente al di sotto del coil, ma quasi pari a zero al centro dello stesso.



Per ovviare alla mancanza di focalità del coil circolare sono stati costruiti coil “a forma di otto” o “a farfalla”, il cui vantaggio è rappresentato dal fatto che la corrente, indotta nel tessuto cerebrale, è massima nel punto in cui i due anelli s’incontrano, consentendo una stimolazione ad elevata focalità.



### **Effetti fisiologici indotti dalla stimolazione magnetica transcranica**

Nonostante il sempre più diffuso impiego della TMS, ancora oggi non sono stati chiariti tutti i possibili effetti di questa metodica a livello del tessuto cerebrale.

L'effetto di un singolo stimolo magnetico applicato alla corteccia cerebrale motoria è rappresentato da una scarica ripetitiva (volley) di onde discendenti, separate da intervalli di 1-1,5 msec.

Se lo stimolo è applicato all'area motoria primaria, le onde si propagheranno lungo il fascio cortico-spinale e poi attraverso i nervi periferici fino al muscolo effettore studiato, nell'emisoma controlaterale, dove è possibile registrare il potenziale evocato motorio (MEP) attraverso degli elettrodi di superficie.

La volley corticospinale è costituita da una prima onda, definita Diretta (D wave) che è generata dalla stimolazione diretta degli assoni delle cellule piramidali corticali e da onde successive, definite Indirette (I waves), attribuibili all'attivazione transinaptica degli stessi neuroni

corticospinali. Le principali differenze tra l'onda diretta e quelle indirette risiedono nella latenza e nella soglia di elicitazione; l'onda diretta possiede una latenza stabile ed inferiore rispetto a quella delle onde indirette, che insorgono circa 1-2 ms dopo l'onda D e vengono denominate in base all'ordine di presentazione I1, I2, I3 etc.

La soglia di stimolo necessaria per evocare un'onda D risulta essere piuttosto costante e strettamente dipendente dall'orientamento del coil. Studi sperimentali hanno inoltre dimostrato che l'onda D, in accordo con l'ipotesi che il sito di origine sia la sostanza bianca sottocorticale, non risente dell'ablazione corticale né di modificazioni dell'eccitabilità corticale. Al contrario, le onde I dipendono dall'integrità anatomica e funzionale dei meccanismi di connettività intracorticale (Di Lazzaro et al, 2004).

I parametri neurofisiologici, quali la latenza e l'ampiezza della risposta, non sono costanti, ma strettamente dipendenti da meccanismi facilitatori spinali e sovraspinali; questo spiega perché il passaggio da uno stato di rilasciamento ad uno di contrazione del "muscolo bersaglio" determina una riduzione delle latenze e un aumento dell'ampiezza del MEP.

## **Principi di applicazione della TMS**

Le metodiche attraverso cui la TMS viene applicata in ambito di ricerca ed in ambito clinico sono diverse.

La Single-pulse TMS è caratterizzata dall'erogazione di un singolo stimolo magnetico seguito da un intervallo di riposo di variabile durata; è usata soprattutto per studi di mapping corticale motorio e di eccitabilità corticospinale. Tipicamente le misure ottenute sono le soglie motorie (RMT e AMT) ed il MEP.

La Paired-pulse TMS consiste nella somministrazione, attraverso lo stesso coil, di due stimoli magnetici accoppiati, separati da un intervallo interstimolo (ISI) variabile da pochi a diverse centinaia di ms.

Nei primi protocolli venivano erogati due stimoli di uguale intensità, mettendo in evidenza l'inibizione intracorticale a lunga latenza o LICI. Successivamente è divenuto tecnicamente possibile erogare due stimoli accoppiati di diversa intensità, in maniera tale che il primo, solitamente sottosoglia, modulasse in senso inibitorio o facilitatorio il secondo, sopra soglia (*Pascual-Leone et al, 1992; Valls-Solè et al 1996*).

La tipologia dell'interferenza dipende dall'intervallo tra i due stimoli: un breve intervallo (1-5 msec) ha un effetto inibitorio e dunque permette di studiare le caratteristiche dei circuiti corticali a trasmissione GABAergica (Short-Interval Intracortical Inhibition); un lungo intervallo (8-25 msec) ha al contrario un effetto eccitatorio e studia i circuiti a trasmissione glutammatergica (Intracortical Facilitation).

La **repetitive transcranial magnetic stimulation** o **rTMS**, invece, è programmata per erogare treni di stimoli ad alta o a bassa frequenza e viene utilizzata per studi di modulazione della plasticità corticale.

Questa tecnica si è rivelata molto utile per lo studio, nell'uomo, dei fenomeni di plasticità a lungo termine attività-dipendente (LTP e LTD), che inizialmente erano stati valutati esclusivamente in studi in vitro.

Grazie all'introduzione della stimolazione magnetica transcranica (TMS), infatti, è stato possibile analizzare i fenomeni di plasticità nel cervello umano intatto, tramite protocolli di TMS ripetitiva (rTMS) analoghi a quelli utilizzati nei preparati sperimentali (*Cooke et al, 2006*).

Gli effetti indotti dalla rTMS possono essere studiati comparando i dati neurofisiologici ottenuti prima e dopo il protocollo di stimolazione.

I principali parametri che vengono utilizzati per “misurare” la plasticità indotta dalla rTMS sono le soglie motorie e l’ampiezza del potenziale evocato motorio (MEP). La soglia motoria è definita come la più bassa intensità di TMS richiesta per elicitare un MEP nel muscolo target, in condizioni di riposo (RMT) o di contrazione muscolare (AMT).

La soglia motoria è utilizzata come indicatore dell’eccitabilità della membrana neuronale.

I MEPs vengono elicitati da stimolazioni TMS soprasoglia e possono essere registrati attraverso un’elettromiografia con elettrodi di superficie, posizionati in corrispondenza del muscolo da studiare. I parametri dei MEPs di maggior interesse sono l’ampiezza, l’area sotto la curva e la latenza.

La TMS ripetitiva della corteccia motoria ha degli effetti sulla eccitabilità cortico-spinale e sui pathways cortico-corticali che persistono per la durata di circa un’ora.

È stato dimostrato che treni di stimoli a bassa frequenza ( $\leq 1$  Hz) hanno effetti inibitori sulla corteccia cerebrale della durata di minuti/ore, mentre treni ad alta frequenza ( $> 1$  Hz) hanno effetti di tipo eccitatorio: tali modificazioni persistono nel tempo e potrebbero corrispondere ai processi precedentemente descritti di LTD o LTP (*Wassermann et al, 1998; Berardelli et al, 1998; Pascual-Leone 1994*).

Il fatto che la rTMS possa indurre cambiamenti LTP/LTD nel cervello umano, ha importanti implicazioni in neurologia: il principio basale è costituito dal fatto che i cambiamenti delle connessioni sinaptiche rTMS-indotte possano promuovere un recupero della funzione in aree cerebrali danneggiate da una lesione cerebrale acuta o cronica (*Ridding et al, 2007*). Da qui derivano le principali applicazioni terapeutiche: epilessia, disturbi del movimento (rTMS a bassa frequenza), depressione e riabilitazione



neuromotoria.

Una ulteriore e più recente evoluzione della rTMS è la tecnica **Theta Burst Stimulation (TBS)**, un particolare protocollo rTMS che prevede bursts di 3 impulsi alla frequenza di 50 Hz ripetuti ad una frequenza di 5 Hz (corrispondenti al ritmo theta in EEG).

Quando applicata alla corteccia motoria, la TBS sviluppa degli effetti sull'eccitabilità corticale che riflettono i processi di LTP e LTD a livello sinaptico (*Di Lazzaro et al, 2008*).

Esistono due modalità principali di erogazione di TBS:

- l'intermittent-TBS (iTBS) è la ripetizione di un treno di 2 secondi di TBS che si ripete ogni 10 secondi,
- la continuous-TBS (cTBS) stimola secondo il classico pattern TBS senza interruzioni.

L'iTBS è un tipo di stimolazione eccitatoria, in quanto determina un incremento persistente nell'ampiezza delle risposte motorie evocate dalla TMS, mentre la cTBS è un protocollo inibitorio, poiché induce una soppressione delle risposte evocate dalla TMS.

Si presume che questi due effetti siano dovuti a cambiamenti nei circuiti neuronali corticali coinvolgenti processi simili, rispettivamente alla LTP e alla LTD a livello delle sinapsi corticali (*Huang et al, 2005-2007*).

Di Lazzaro e collaboratori hanno fornito la prova diretta dell'origine corticale degli effetti TBS attraverso la registrazione delle volleys corticospinali evocate dalla TMS in pazienti che avevano uno stimolatore epidurale impiantato a livello cervicale per il controllo del dolore. Tali studi hanno dimostrato che l'iTBS porta ad un incremento dell'eccitabilità dei circuiti corticali che generano le successive onde I, mentre l'onda I più precoce (I1) è inalterata; la cTBS esercita il suo effetto inibitorio preferenzialmente sulla I1 lasciando praticamente

invariate le successive onde I (*Di Lazzaro et al, 2005-2006*).

Questa specificità suggerisce che i due protocolli producono i loro effetti modulando diversi circuiti corticali motori o lo stesso circuito ma in differenti siti: ciò potrebbe avere importanti risvolti nelle applicazioni terapeutiche dei protocolli di rTMS.

### **Applicazione della rTMS nella riabilitazione motoria post-ictus**

L'utilizzo di protocolli di rTMS, che come si è detto hanno una analogia con gli studi neurobiologici in vitro per indurre LTP e LTD ha permesso di studiare in maniera non invasiva la plasticità cerebrale. Questo si è rivelato particolarmente interessante nei pazienti con ictus ischemico per le possibili implicazioni prognostiche di tale dato.

Il fenomeno di LTP coinvolto nella neuroplasticità ha infatti un ruolo centrale nei meccanismi di adattamento e nel recupero osservato dopo una lesione cerebrale (*Centonze et al, 2007; Di Filippo et al 2008*).

In condizioni fisiologiche, secondo la teoria della competizione inibitoria interemisferica, i due emisferi cerebrali si trovano in uno stato di equilibrio di mutua inibizione (*Kinsbourne et al, 1974*).

L'ictus determinerebbe pertanto un'alterazione dell'equilibrio interemisferico, con una riduzione dell'inibizione dell'emisfero controlesionale da parte dell'emisfero ipsilesionale e, a sua volta, un aumento dell'inibizione dell'emisfero ipsilesionale ad opera dell'emisfero controlesionale (*Murase et al 2004*).

Nella prima fase che segue l'insulto ischemico, la corteccia motoria colpita mostra una ridotta eccitabilità, un'augmentata soglia ed una soppressione della rappresentazione topografica dei muscoli colpiti,

mentre la corteccia motoria controlaterale indenne mostra un incremento dell'eccitabilità ed un maggiore output motorio, che correla con la severità dei deficit motorio e con la difficoltà di recupero funzionale (*Liepert et al 2005; Cicinelli et al 1997; Traversa et al 1998*).

Poiché tale squilibrio nell'eccitabilità dei due emisferi cerebrali si riduce nel corso del recupero funzionale nei primi mesi dopo l'ictus, è ipotizzabile che procedure volte a favorire il ristabilirsi di un normale equilibrio nell'interazione interemisferica possano agevolare il recupero della funzione motoria dell'arto paretico (*Ward et al 2004; Hummel et al 2006*).

La stimolazione iTBS può indurre LTP nell'emisfero stimolato e LTD nell'emisfero opposto; l'iTBS sull'emisfero lesa induce una riduzione della soglia motoria e un aumento dell'ampiezza dei potenziali evocati motori; l'aumento dell'ampiezza del MEP correla in modo significativo con il recupero a sei mesi (*Di Lazzaro et al, 2010*).

Una riduzione della soglia dell'emisfero lesa è stata descritta dopo rTMS inibitoria sull'emisfero sano effettuata in un periodo di due settimane in un gruppo di pazienti con ictus in cronico e si è riscontrato che il cambiamento nella soglia dell'emisfero affetto era correlato in modo significativo con il miglioramento della funzione motoria (*Fregni et al, 2006*). Questa evidenza supporta la correlazione tra la capacità di indurre cambiamenti di eccitabilità usando rTMS e il processo di recupero motorio.

Quando vengono presi in considerazione anche i cambiamenti della LTD prodotti nell'emisfero non affetto, sembra che il più forte predittore di recupero completo sia rappresentato da una combinazione degli effetti LTP-simili prodotti dall'iTBS nella corteccia motoria stimolata con gli effetti LTD-simili prodotti nella corteccia motoria controlaterale. Questo

suggerisce che il recupero della funzione dopo un ictus si basi su un'attività di riorganizzazione in entrambi gli emisferi. Il potenziamento a lungo termine nell'emisfero lesa e la depressione a lungo termine nell'emisfero sano potrebbero produrre un effetto di bilanciamento sull'eccitabilità nei due emisferi. Pertanto, più è evidente l'effetto della iTBS maggiore sarà la probabilità di un recupero completo. Gli studi di letteratura mostrano, inoltre, una maggiore efficacia della iTBS condotta sull'emisfero ipsilesionale piuttosto che la stimolazione inibitoria sull'emisfero controlesionale (*Meehan et al, 2011; Talelli et al, 2007*).

I dati attuali forniscono un quadro più complesso di rivalità interemisferica, in quanto suggeriscono che insieme all'eccitabilità di base dei due emisferi sia rilevante anche la risposta di entrambi gli emisferi a un protocollo di rTMS che induce fenomeni LTP e LTD-like.

La "teoria di Bienenstock-Cooper-Munro" costituisce un modello che per primo ha teorizzato una soglia variabile per l'induzione di LTP/LTD, nel quale la plasticità sinaptica è stabilizzata da un adattamento dinamico dell'attività postsinaptica media nel tempo: riducendo l'attività postsinaptica diminuisce la soglia di LTP ed aumenta quella di LTD.

Queste evidenze pongono le basi per un'ulteriore possibile applicazione della TBS che prevede l'utilizzo di un paradigma di stimolazione inibitoria, ovvero cTBS, sull'emisfero colpito dal danno ischemico (*Di Lazzaro et al, 2013*).

In questo modo, attraverso l'azione omeostatica sulla plasticità sinaptica, la ridotta eccitabilità della corteccia motoria lesionata consentirebbe di facilitare i processi di riabilitazione (*Jung et al 2009; Muller et al 2007*).

## **SISTEMI ROBOTICI E RIABILITAZIONE MOTORIA**

L'utilizzo dei primi sistemi robotici in riabilitazione risale alla fine degli anni '70. Negli anni successivi la robotica si è evoluta e adattata anche all'utilizzo per fini terapeutici nella riabilitazione neuromotoria dei pazienti affetti da patologia cerebrovascolare.

Numerosi studi suggeriscono che la terapia robotica possa essere affiancata alla terapia "convenzionale" per migliorare il recupero motorio (*Ferraro et al. 2003; Prage et al, 2006; Fasol; Krebs et al, 2007; Masiero et al, 2007*).

La combinazione di questi due approcci è in grado di favorire e stimolare i meccanismi di neuroplasticità, che sono alla base del recupero funzionale dopo un danno neurologico.

Da un punto di vista neurofisiologico, la terapia robotica è in grado di promuovere i meccanismi di riorganizzazione cerebrale e la neuroplasticità.

La neuroplasticità è definita come la capacità del sistema nervoso di modificare la sua struttura e funzione in risposta a una varietà di fattori intrinseci o estrinseci ed è il meccanismo chiave per l'apprendimento motorio e il recupero funzionale in soggetti affetti da lesioni cerebrali (*Ferraro et al. 2003*).

Le ricerche degli ultimi anni hanno dimostrato che il sistema nervoso centrale è in grado di adattarsi a situazioni patogene acute, come un trauma o un ictus, mediante tre meccanismi principali: 1) la modificazione dei rapporti sinaptici con l'attivazione di nuove connessioni o di sinapsi precedentemente inattive (sprouting); 2) l'attivazione di aree cerebrali in grado di vicariare alcune funzioni perse;

3) l'assunzione di funzioni suppletive da parte delle strutture cerebrali indenni.

Le evidenze in letteratura evidenziano che tali cambiamenti alla base del recupero neurologico possono essere facilitati da interventi riabilitativi che prevedono l'esecuzione di compiti sensitivo-motorio finalizzati e che un approccio terapeutico strutturato, ripetitivo ed intensivo favorisce la riorganizzazione corticale in seguito ad un danno acuto (*Nudo et al. 1999*).

Tra i vari approcci neuroriabilitativi, quello che ha dimostrato migliori risultati è la riabilitazione motoria "task oriented" (*Hallett et al 2003*), somministrata attraverso l'esecuzione di esercizi finalizzati ad un preciso scopo e mirati al raggiungimento di un determinato obiettivo.

In questo scenario, il trattamento riabilitativo con supporto robotico assume particolare importanza, in quanto:

- finalizza un approccio sistema intensivo, strutturato e iterativo;
- permette l'esecuzione di esercizi "task oriented"
- rappresenta un sistema adattabile e flessibile alle caratteristiche e al deficit motorio del singolo paziente
- rende possibile il monitoraggio e la registrazione quantitativa della performance motoria del paziente.

In particolare, i sistemi robotici attualmente disponibili sono in grado di misurare e analizzare in tempo reale una serie di parametri sul task motorio effettuato dal paziente, in maniera tale che il tipo di esercizio venga il più possibile personalizzato durante la sessione di trattamento.

In altre parole, la macchina è in grado di adattarsi e, se necessario, assistere il paziente in funzione delle sue abilità residue e dell'andamento delle sue prestazioni durante lo svolgimento dell'esercizio.

I parametri del movimento possono essere poi registrati allo scopo di monitorare e confrontare quantitativamente, in ultima analisi, l'eventuale miglioramento del deficit neurologico.

Attualmente esistono diversi tipi di robot, molti dei quali vengono utilizzati per effettuare il training dell'arto superiore: il sistema robotico chiamato "MIME" (Mirror Image Motion Enabler), il sistema "ARM Guide" (Assisted rehabilitation and Measurement Guide), i sistemi InMotion 2 "Mit Manus" e In Motion 3 "Wrist".

- Il "MIME" (Mirror Image Motion Enabler), ad esempio, assiste i movimenti dell'arto superiore, fissato ad una sorta di esoscheletro, nelle tre dimensioni dello spazio. Questo sistema permette di effettuare quattro tipi differenti di terapia: passiva, attiva-assistita, attiva-contrastata e autoguidata grazie ai movimenti dell'arto controlaterale. L'interazione meccanica tra il robot e l'arto del paziente viene misurata grazie a dei trasduttori di forza, i dati raccolti sono quindi elaborati e memorizzati grazie ad un personal computer.

- Il sistema "ARM Guide" guida il paziente attraverso una terapia tipo attiva-assistita e non opera attivamente sui diversi gradi di libertà dell'arto superiore del paziente, ma lo guida, anche contro gravità, in modo da produrre a livello della mano delle traiettorie rettilinee. In questo sistema la mano e l'avambraccio del paziente sono vincolati ad uno speciale manipolo che scorrendo, si muove lungo una traiettoria rettilinea: il compito del paziente è quello di provare a raggiungere dei target posizionati in differenti direzioni dello spazio di lavoro, cercando di muovere l'arto il più velocemente possibile, mentre il robot assiste il paziente durante l'intera traiettoria.

- Il robot **“InMotion2” (MIT-MANUS)**, ideato dal gruppo del “Cornell University Medical College, Department of Neurology and Neuroscience, Burke Institute of Medical Research, New York” e del “Mechanical Engineering Department, Newman Laboratory for Biomechanics and Human Rehabilitation, and Brain and Cognitive Sciences Department, Massachusetts Institute of Technology (MIT) Boston” è un robot a 2 gradi di libertà che permette il movimento delle articolazioni di spalla e gomito lungo un piano orizzontale.

Il sistema è in grado di far eseguire al paziente movimenti del comparto prossimale dell'arto superiore (articolazioni spalla-gomito). Il paziente impugna l'effettore del robot, che lo guida nell'esecuzione di movimenti planari punto-punto; il paziente vede su di un monitor il target su cui deve spostare l'effettore ed esegue il movimento tramite l'assistenza attiva del robot, che compensa il deficit motorio del paziente.

Nelle sedute di trattamento, viene richiesto al paziente di raggiungere con il braccio affetto, dei target visivi che un'interfaccia grafica indica sul monitor. Il tipico task che viene eseguito è l'esercizio del “clock” in cui il soggetto deve effettuare dei movimenti punto-punto partendo dal centro verso 8 target periferici che si trovano a 14 cm di distanza dal centro e sono posizionati sulla circonferenza, a 45° l'uno dall'altro.

Se il paziente non riesce a completare il movimento punto-punto previsto dal gioco o devia eccessivamente dalla traiettoria desiderata, il robot interviene per assisterlo.

- L'“InMotion3” (WRIST) è progettato invece per il trattamento del comparto distale dell'arto superiore (articolazione polso). Il robot è in grado di flettere, estendere e ruotare il polso del paziente, e anche in questo caso il robot è in grado di dosare il livello di interazione con il



paziente in modo è in grado di assisterlo in caso di difficoltà nell'esecuzione del movimento.

I sistemi InMotion appartengono alla categoria dei robot operazionali e consistono in un effettore che guida il paziente nell'esecuzione di specifici movimenti dosando il livello di interazione, compensando i deficit motori del paziente e stimolandone la componente residua

## STUDIO SPERIMENTALE

### Razionale

Nei soggetti con ictus cerebrale cronico, ovvero con deficit funzionale residuo ad almeno un anno dall'evento ischemico acuto, la compromissione motoria, specie se grave, è in genere scarsamente responsiva alle terapie riabilitative cosiddette "convenzionali".

Per questa ragione è forte lo stimolo a cercare nuove prospettive neuroriabilitative che risultino efficaci nei pazienti con deficit motorio grave e stabilizzato.

Alcuni studi hanno dimostrato che in pazienti con deficit moderato-grave dell'arto superiore, la terapia robotica, anche se effettuata alcuni anni dopo l'evento ischemico acuto, possa determinare un miglioramento della funzionalità motoria (*Lo et al. 2010*).

Un altro approccio innovativo per potenziare il recupero motorio è rappresentato dalle tecniche di stimolazione cerebrale non-invasiva (non-invasive brain stimulation – NIBS), come la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (repetitive transcranial magnetic stimulation - rTMS).

Questo tipo di stimolazione è in grado, come descritto in precedenza, di indurre dei cambiamenti duraturi nei circuiti cerebrali attraverso l'attivazione dei meccanismi neurobiologici di *long-term potentiation* (LTP) e *long-term depression* (LTD) (*Di Pino et al. 2014*).

Un recente studio ha descritto un lieve miglioramento della funzionalità motoria in un gruppo di pazienti con ictus cronico dopo 10 sedute di rTMS (Demirtas-Tatlidedea et al, 2015).

Tali dati suggeriscono che la terapia robotica riabilitativa e la stimolazione cerebrale non-invasiva possano avere un'azione sinergica nel recupero motorio dei pazienti affetti da deficit grave e stabilizzato dopo ictus cerebrale ischemico.

E' stato disegnato a tal fine uno studio pilota, in doppio cieco, semirandomizzato e controllato con placebo, per valutare l'efficacia di una terapia combinata, in un gruppo di pazienti con ictus cronico e deficit residuo grave in arto superiore.

Tra i protocolli di rTMS è stata scelta la *continuous theta burst stimulation* (cTBS), in grado di indurre fenomeni inibitori LTD-like a livello della corteccia motoria, che persistono per circa 1 ora dopo la fine dello stimolo magnetico. L'emisfero stimolato è stato quello affetto dagli esiti di ischemia cerebrale.

La scelta di utilizzare la cTBS sull'emisfero affetto deriva dai risultati di un recente studio che ha dimostrato che questo tipo di protocollo inibitorio è in grado di aumentare la risposta al trattamento riabilitativo (Di Lazzaro et al, 2013).

E' stato documentato che in soggetti sani, i protocolli inibitori di rTMS possono facilitare l'apprendimento motorio, verosimilmente attraverso i meccanismi di plasticità omeostatica (Jung and Ziemann, 2009). In considerazione del legame esistente tra i fenomeni LTP e i meccanismi di memoria e apprendimento, sembrerebbe un paradosso che anche la LTD possa determinare un miglioramento dell'apprendimento (Malenka and Bear, 2004), sebbene recenti evidenze dimostrino che l'apprendimento

dipende da un equilibrio tra LTP e LTD e che la possibilità di indurre tali fenomeni dipenda dalla pregressa attività della sinapsi (*Rioult-Pedotti et al., 2000*).

Nei pazienti con ictus, somministrando un protocollo inibitorio sulla sede della lesione si potrebbe pertanto ottenere una facilitazione della induzione di LTP da parte dell'intervento riabilitativo immediatamente successivo, comportando in ultima analisi un recupero motorio (*Di Pino et al, 2014* ).

## **Materiali e metodi**

### **Pazienti**

Lo studio è stato condotto in accordo con la convenzione di Oviedo ed è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università Campus Bio-Medico di Roma.

Tutti i partecipanti hanno fornito il loro consenso informato alla partecipazione allo studio sperimentale, in forma scritta.

I criteri di inclusione considerati sono stati i seguenti:

- Primo episodio di ictus ischemico cerebrale
- Età  $\geq 18$  anni
- Tempo trascorso tra ictus ischemico ed inizio del trattamento  $\geq 12$  mesi
- Grave deficit di forza residuo in arto superiore. Il deficit è stato valutato quantitativamente mediante la scala standardizzata per il deficit dell'arto superiore Fugl-Meyer (Fugl-Meyer Assessment of sensory motor recovery after stroke – 1975; v. Appendice), con

punteggio 0=assenza di funzione e 66=funzione normale. Sono stati selezionati i pazienti con deficit compreso tra 3 e 28 punti.

- Capacità del paziente di fornire il proprio consenso informato e di comprendere le istruzioni durante il trattamento riabilitativo

I criteri di esclusione considerati sono stati i seguenti:

- Anamnesi positiva per altre patologie neurologiche, inclusa storia di epilessia
- Altre condizioni mediche rilevanti
- Deficit cognitivo, alterazioni del linguaggio, deficit dell'attenzione con possibile interferenza sulla comprensione delle istruzioni per lo svolgimento dello studio sperimentale
- Aprassia
- Eccessivo dolore articolare alla mobilizzazione dell'arto superiore affetto
- Controindicazioni alla TMS (per esempio presenza di protesi metalliche o pacemaker cardiaco)
- Storia di abuso di alcool o sostanze stupefacenti
- Depressione
- Uso di farmaci psicotropi come antidepressivi e benzodiazepine

Il deficit neurologico è stato misurato mediante la scala NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale). Il grado di disabilità residua è stato invece registrato con l'ausilio della BI (Barthel Index) (v. Appendice).

Lo studio sperimentale è stato proposto ai pazienti con ictus ischemico cronico valutati presso gli ambulatori specialistici dell'U.O. di Neurologia del Policlinico Universitario Campus Bio-Medico di Roma.

Sono stati sottoposti a screening 143 pazienti: di questi, 13 pazienti hanno rifiutato di partecipare allo studio e 110 sono stati esclusi perchè non rispettavano i criteri di inclusione o di esclusione.

I motivi principali per l'esclusione dei pazienti dalla sperimentazione sono stati: un punteggio alla Fugl-Meyer non compreso nel range stabilito, storia di epilessia, ictus di tipo emorragico.

Le altre cause di esclusione sono state: precedente ictus, ictus verificatosi meno di 12 mesi prima, grave deficit cognitivo, controindicazioni all'applicazione di TMS, uso di farmaci psicotropi.

In definitiva sono stati inclusi nello studio 20 pazienti.

### **Disegno sperimentale**

Nella popolazione di studio sono stati randomizzati 20 pazienti:

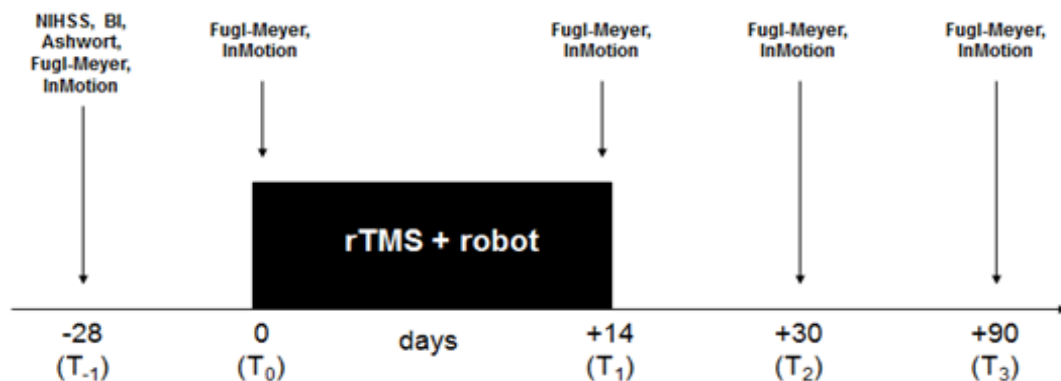
- 10 pazienti sono stati sottoposti a rTMS reale (real cTBS) + terapia robotica;
- 10 pazienti sono stati sottoposti a rTMS placebo (sham cTBS) + terapia robotica.

I pazienti sono stati stratificati in modo che il livello di gravità fosse bilanciato nei due gruppi.

La sperimentazione è stata condotta in condizione di double-blind: per tutta la durata dello studio né il paziente, né lo sperimentatore incaricato di effettuare il trattamento erano a conoscenza del tipo di stimolazione erogata (real/sham).

Per ogni paziente il protocollo sperimentale si è articolato in 3 momenti:

- la fase di valutazione al baseline;
- la fase di intervento della durata di 2 settimane (una seduta al giorno per 5 giorni lavorativi consecutivi, in totale di 10 sedute);
- la fase di follow-up della durata di 3 mesi.



Durante ogni seduta il paziente è stato sottoposto a stimolazione cTBS (real o sham) seguita dal trattamento riabilitativo con terapia robotica.

Tutti i pazienti sono stati valutati mediante la scala Fugl-Meyer ed il robot MitManus prima del trattamento (baseline), immediatamente dopo il trattamento (post), dopo 1 mese e dopo 3 mesi. Nella valutazione iniziale sono state inoltre somministrate le seguenti scale (v. Appendice):

- NIHSS,
- Modified Rankin Scale,
- Barthel Index,
- Ashworth scale.

Quest'ultima scala è stata usata per valutare il grado di spasticità alla spalla, al gomito, al polso e alle dita dell'arto affetto. I punteggi ottenuti dai 4 fulcri articolari sono stati sommati per ottenere lo score totale (da 0=assenza di spasticità a 16=spasticità massima).

Alla fine del protocollo sperimentale, l'eventuale effetto dell'associazione tra TMS e terapia robotica è stato valutato in base ai seguenti parametri funzionali:

- variazione del punteggio Fugl-Meyer rispetto al baseline (outcome primario);

- variazione degli indicatori robotici misurati rispetto al basale (outcomes secondari).

Durante tutta la durata dello studio (fase di intervento di 2 settimane e fase di follow-up di 3 mesi), i pazienti non sono stati sottoposti ad altri trattamenti riabilitativi e non hanno effettuato variazioni della terapia farmacologica domiciliare.

### **Stimolazione magnetica transcranica**

Per la stimolazione magnetica transcranica è stato utilizzato uno stimolatore DUOMAG XT ® connesso ad un coil a forma di 8.



La rTMS è stata applicata sulla corteccia motoria dell'emisfero colpito da ictus, in corrispondenza dell'area di rappresentazione della mano, con il coil posizionato in orientamento posterolaterale e con inclinazione il più possibile perpendicolare al solco centrale.

E' stato somministrato il protocollo inibitorio cTBS, che tecnicamente consiste nell'erogazione di treni di 3 stimoli a frequenza di 50 Hz, ripetuti ogni 200 ms per un totale di 600 stimoli.



L'intensità della stimolazione è stata impostata all'80% della AMT (soglia motoria attiva) dell'emisfero affetto, definita come l'intensità minima capace di evocare un potenziale evocato motorio  $>200 \mu\text{V}$ , in almeno 5 tracce su 10, nel muscolo I interosseo dorsale della mano controlaterale, durante contrazione attiva.

Per la stimolazione placebo (sham cTBS) è stato utilizzato lo stesso stimolatore, ma con il coil inclinato di  $90^\circ$  rispetto alla posizione usata per la stimolazione real, ad un'intensità corrispondente al 3% dell'output massimo dello stimolatore. Questo tipo di approccio produce una sensazione tattile sul cuoio capelluto e uno stimolo uditivo del tutto sovrapponibili a quelli indotti dalla stimolazione real, ma senza alcun effetto sulla corteccia cerebrale.

### **Terapia robotica**

Per la terapia robotica è stato utilizzato il robot InMotion2® (Interactive Motion Technologies, Inc.), in grado di far eseguire al paziente movimenti precisi e standardizzati del comparto prossimale dell'arto superiore (spalla-gomito) e di fornire, ad ogni seduta di trattamento, una misurazione obiettiva e quantitativa della performance motoria del eseguita .



Il paziente, impugnando l'effettore del robot, viene guidato nell'esecuzione di movimenti planari punto-punto e nel frattempo è in grado di seguire su un monitor il target verso il quale dirigere l'effettore. L'assistenza attiva del robot registra e segue il movimento dell'arto superiore e, all'occorrenza, compensa il deficit motorio del paziente.

Nella fase di valutazione il sistema robotico è stato impostato in modalità "passiva": al paziente veniva richiesto di completare 5 sessioni di esercizi, ciascuna delle quali composta da 16 movimenti lineari, condotti su un bersaglio circolare del raggio di 14 cm, partendo dal punto centrale verso gli 8 target equidistanti tra loro e posti lungo la circonferenza, e ritorno.

Nella fase di trattamento il protocollo riabilitativo robotico con InMotion2 è stato somministrato immediatamente dopo la seduta di stimolazione cerebrale, al fine di sfruttare la finestra temporale degli effetti LTD-like della cTBS, della durata di circa 1 ora.

Il trattamento rTMS + terapia robotica è stato effettuato una volta al giorno per i 5 giorni lavorativi a settimana, in 2 settimane consecutive, per un totale di 10 sedute.

Ad ogni seduta di trattamento robotico, il paziente ha effettuato 3 sessioni di 320 movimenti lineari punto-punto, secondo le modalità descritte sopra (lungo un bersaglio circolare, partendo dal punto centrale verso 8 target posti lungo la circonferenza, e ritorno) con l'assistenza del robot, intervallate da 4 sessioni di 16 movimenti lineari secondo lo stesso schema ma senza l'assistenza del sistema robotico. Il livello di assistenza del robot durante gli esercizi, veniva ogni volta automaticamente regolato in base alla performance del paziente durante la sessione effettuata senza l'ausilio meccanico.

Ogni seduta è stata seguita da un medico esperto in medicina fisica e riabilitativa.

I dati registrati dal sistema robotico, sia durante le fase di valutazione che durante le sedute di trattamento, sono stati analizzati per estrarre gli indicatori in grado di descrivere la performance motoria del paziente.

Tra questi:

- Accuratezza del movimento, definita quantitativamente dalle 2 variabili:
  - a) *Area* – ossia l'area compresa, sull'asse cartesiano, tra la linea retta che rappresenta la traiettoria desiderata e la curva effettivamente percorsa dal paziente durante ciascun movimento punto-punto.
  - b) *nMD (normalized mean deviation)* – ossia la distanza, in valore medio assoluto, tra la traiettoria desiderata e quella realmente seguita dal paziente, normalizzata sul valore della deviazione massima ottenuta (*Colombo et al 2008*).

Ci si attende una riduzione di entrambe le variabili, proporzionalmente al miglioramento dell'accuratezza del movimento e quindi al recupero funzionale motorio.

- Direzione del movimento, espressa tramite l'*aiming angle*, che rappresenta l'angolo compreso tra la direzione target e la direzione del movimento effettivo, identificata dalla retta congiungente il punto di partenza e il punto corrispondente alla massima velocità raggiunta durante il movimento richiesto. Anche il valore di questa variabile dovrebbe diminuire di pari passo con il recupero motorio del paziente.

- Fluidità , che quantifica la presenza di accelerazioni e decelerazioni nel profilo di velocità del movimento e che è a sua volta misurata mediante 2 indicatori (*Rohrer et al, 2002*):
  - a) *Speed Metric (SM)*, espresso come il rapporto tra la velocità media e la velocità di picco e di cui ci si attende un aumento in caso di miglioramento clinico del paziente;
  - b) *Mean Arrest Period Ratio (MAPR)*, definito come il numero di volte in cui la velocità del movimento effettuato dal paziente supera il valore soglia del 10% della velocità di picco e che tende al ridursi con il recupero motorio.
- Velocità, che quantifica la rapidità del movimento mediante la Deviation from ratio between velocity (DRV), definito come la deviazione, in valore assoluto, del rapporto tra la velocità di picco e la velocità media rispetto alla costante 1.875 (corrispondente al valore del medesimo rapporto ottenuto per la minimum jerk trajectory). Ci si attende una riduzione di questo indicatore proporzionalmente al miglioramento dell'esecuzione dell'esercizio da parte del paziente (*Flash and Hogan, 1985*).
- Durata del movimento (Movement Duration - MD), che misura il tempo impiegato per l'esecuzione del task completo e precisamente dall'inizio del movimento (istante in cui la velocità supera il valore soglia del 10% della velocità di picco) e la fine dello stesso (istante in cui la velocità scende al di sotto del valore soglia della velocità di picco). Questo indicatore, espresso in secondi, si riduce nel momento in cui il paziente migliora la sua performance motoria.
- Efficienza, che fornisce una stima dell'abilità del paziente nel raggiungere il target durante ogni esercizio attraverso 2 variabili:

- a) *Lunghezza della traiettoria (Path Length – PL)* espresso come il rapporto tra la lunghezza del percorso tracciato dal paziente e la linea retta corrispondente alla traiettoria attesa, tramite il length ratio, rappresenta il rapporto tra la traiettoria desiderata e quella effetti punto-punto. E' intuitivo che, proporzionalmente al recupero motorio del paziente, questo valore tenderà a 1.
- b) *Percentuale di successo (Success rate – SR)* che si riferisce alla percentuale di volte in cui il paziente raggiunge con precisione il target durante la sequenza di esercizi e che chiaramente aumenta di pari passo con il miglioramento clinico (*Panarese et al., 2012*).

## **Statistica**

L'analisi statistica è stata effettuata da programma IBM SPSS v22. E' stato verificato che i due gruppi di pazienti real/sham fossero appaiati per età, sesso e caratteristiche cliniche.

Successivamente è stato valutato l'effetto del trattamento combinato di rTMS + terapia robotica sull'outcome primario (punteggio Fugl-Meyer) utilizzando il sistema ANOVA di confronto tra il Tempo (4 livelli: Baseline - Post - 1 mese - 3 mesi) come fattore intra-soggetto e il Gruppo (2 livelli; real cTBS - sham cTBS) come fattore inter-soggetto.

Per gli outcomes secondari (le misure robotiche) è stato utilizzato l'approccio l'approccio Generalized Estimating Equation (*Pellegrino et al, 2012; Di Lazzaro et al, 2014*).

L'analisi del Success Rate è stato effettuato mediante il Chi-Square test. Il livello di significatività è stato impostato a  $p < 0.05$  e per le misurazioni multiple è stata utilizzata la correzione, quando necessario. I dati sono riportati come Media  $\pm$  Errore Standard.

## Risultati

Sono stati randomizzati 20 pazienti (14% dei pazienti sottoposti a screening): 10 di essi sono stati assegnati al gruppo REAL (real cTBS + terapia robotica) e 10 al gruppo SHAM (sham cTBS+ terapia robotica).

Un paziente randomizzato nel gruppo REAL ha ritirato il consenso alla partecipazione allo studio, prima dell'inizio delle sedute di trattamento,

Un paziente REAL e un paziente SHAM hanno interrotto il protocollo sperimentale, per riferita difficoltà nel raggiungere l'ospedale, rispettivamente dopo la terza e dopo la quinta seduta di trattamento.

I dati di questi 3 pazienti non sono stati inclusi nell'analisi dello studio, che è stata portata avanti sui 17 pazienti (85%) che hanno portato a termine il follow-up a 3 mesi: 8 pazienti REAL (età media:  $57.8 \pm 4.4$  anni) e 9 pazienti SHAM (età media:  $56.7 \pm 3.2$  anni).

I due gruppi REAL/SHAM erano appaiati per età, sesso, tempo intercorso tra la randomizzazione e l'evento ischemico acuto e per lo stato neurologico del paziente al baseline (NIHSS, mRS, BI, punteggio Ashworth, Fugl-Meyer).

	real cTBS (8pz)	sham cTBS (9pz)
Età (anni)	$57.88 \pm 4.434$	$56.78 \pm 3.202$
Sesso (M)	4	4
Tempo da ictus (mesi)	$63.25 \pm 25.437$	$61.33 \pm 14.716$
NIHSS	$5.50 \pm 0.779$	$5.00 \pm 0.687$
mRS	$2.88 \pm 0.350$	$3.00 \pm 0.333$
BI	$76.88 \pm 7.130$	$77.22 \pm 4.648$
Ashworth (punteggio cumulativo)	$5.00 \pm 0.597$	$7.111 \pm 1.160$
Fugl-Meyer	$14.50 \pm 2.428$	$12.56 \pm 2.243$

Per tutta la durata del disegno sperimentale, non sono stati riportati eventi avversi correlabili alla TMS (per esempio crisi comiziali, sincopi,

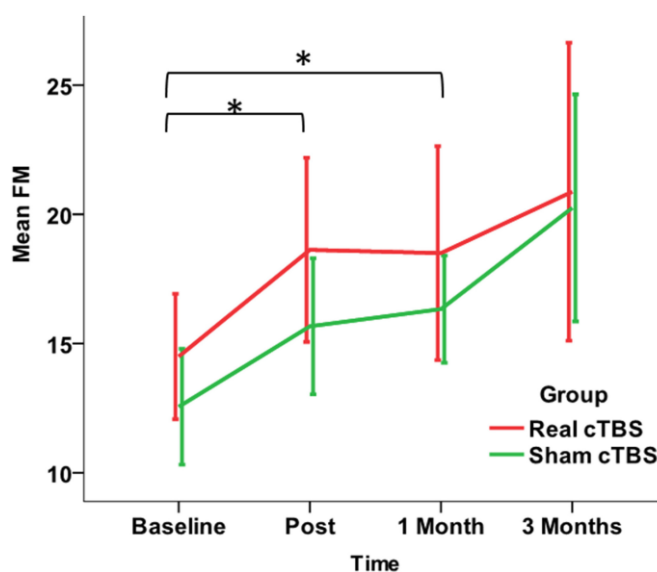
cefalea, dolore, alterazioni della memoria o dello stato di coscienza, etc) o al trattamento robotico: in particolare nessun paziente ha riferito sintomatologia dolorosa a livello dell'arto superiore sottoposto all'intervento riabilitativo.

### *Outcome primario*

Per quanto riguarda l'outcome primario (variazione del punteggio Fugl-Meyer rispetto al baseline), sia i pazienti sottoposti a real rTMS che quelli sottoposti a sham rTMS hanno presentato un miglioramento clinico ( $p < 0.05$ ), senza differenze significative tra i 2 gruppi.

L'ANOVA ha confermato un effetto statisticamente significativo del trattamento riabilitativo robotico [Factor Time:  $F(1.613, 22.586) = 5.801$ ,  $p = 0.013$ ] ma non della stimolazione magnetica transcranica [Factor Group and Group by Time interaction:  $p > 0.200$ ].

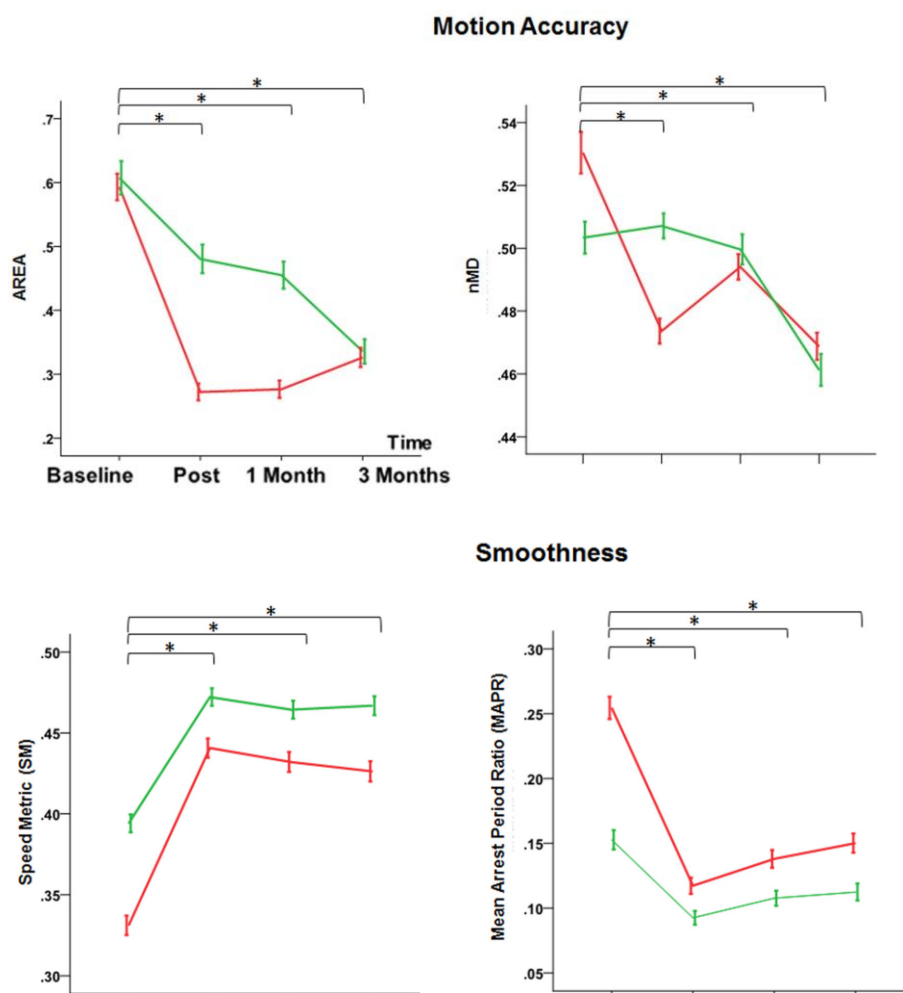
Il miglioramento della Fugl-Meyer rispetto al baseline è stato osservato in tutte le valutazioni di follow-up (post, 1 mese e 3 mesi) ma è risultato significativo solo al post ed a 1 mese (Bonferroni corrected post-hoc  $p = 0.30$ ,  $p = 0.19$ , rispettivamente).



### *Outcomes secondari*

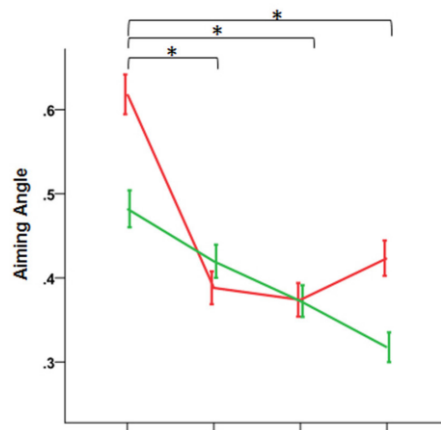
In relazione agli outcomes secondari (variazione degli indicatori robotici rispetto al basale) in tutti i pazienti sottoposti a terapia robotica è stato riscontrato un miglioramento delle performance motorie.

L'analisi statistica ha mostrato un miglioramento significativo indotto dalla riabilitazione robotica, documentato da tutti i parametri presi in considerazione: accuratezza, direzione, fluidità, velocità di esecuzione e durata del movimento efficienza.

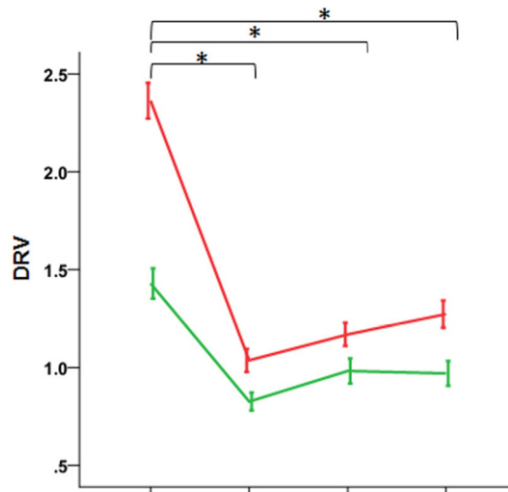




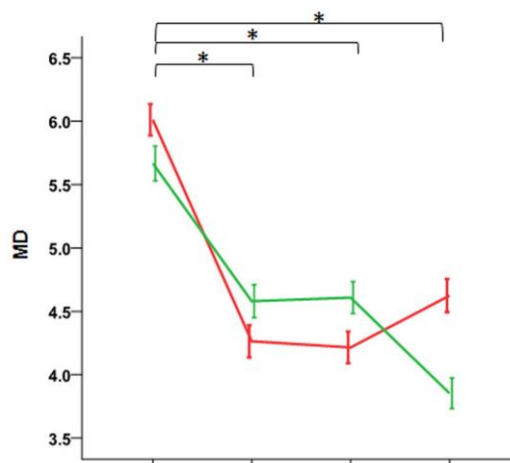
### Motion Direction

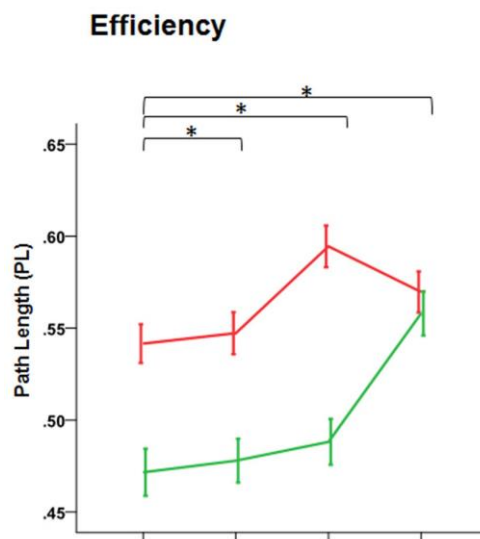


### Speed



### Movement Duration





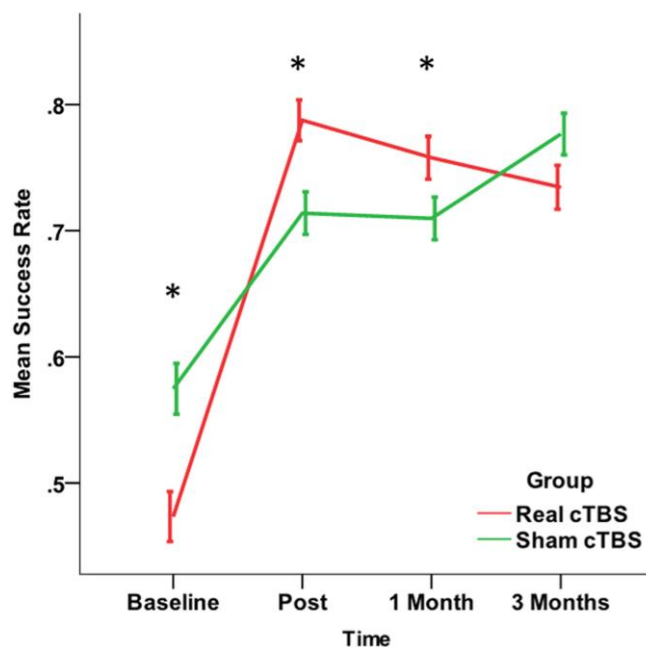
In particolare, tutti gli indicatori, ad eccezione della nMD (normalized Mean Deviation) hanno mostrato un significativo Factor Time (Area: Wald Chi-Square=28.019, df=3, p=0.000; Aiming angle: Wald Chi-Square=44.608, df=3, p=0.000; Speed Metric SM: Wald Chi-Square=126.045, df=3, p=0.000; Mean Arrest Period Ratio MAPR: Wald Chi-Square=2.796, df=3, p=0.000; Speed DRV: Wald Chi-Square=20.275, df=3, p=0.000; Movement Duration MD: Wald Chi-Square=52.088, df=3, p=0.000). La correzione di Bonferroni ha confermato per tutte queste variabili un significativo miglioramento in tutti i timing al follow-up (post, 1 mese e 3 mesi;  $p < 0.05$ ).

Non è stata riscontrata alcuna differenza significativa dal confronto tra il gruppo REAL ed il gruppo SHAM.

Una particolare attenzione merita lo studio dell'indicatore "Efficienza" sul quale il trattamento con stimolazione magnetica transcranica cTBS ha determinato un effetto aggiuntivo rispetto alla sola terapia robotica.

In questa analisi, la variazione del parametro "Lunghezza della traiettoria" (PL) non ha raggiunto i livelli di significatività statistica nel

confronto tra i 2 gruppi; al contrario, l'effetto sulla variabile "Percentuale di successo" (SR) si è mostrato significativamente differente nel confronto REAL/SHAM.



Tenendo in considerazione tutti i pazienti (REAL + SHAM), il numero di errori si è ridotto da 593 al baseline a 342 (post), 364 (1 mese), 313 (3 mesi), ma la riduzione è stata diversa nei due gruppi (Chi-Square=35.576, df=3, p=0.000).

Il gruppo REAL, pur partendo da un numero più alto di errori al baseline (337 vs. 256, Std. Residual - 2.4), ha mostrato una riduzione degli errori significativamente maggiore rispetto al gruppo SHAM nel post (real cTBS 136, sham cTBS 206, Std. residuals >1.9) e a 1 mese (real cTBS 155, sham cTBS 209, Std. residuals = 1.9); tale effetto non è stato riscontrato nel follow-up a 3 mesi (real cTBS 170, sham cTBS 143, Std. residuals = 1.2)

## **Discussione**

Questo protocollo sperimentale ha dimostrato che la riabilitazione con terapia robotica in approccio intensivo e della durata di due settimane è in grado di produrre un lieve ma significativo miglioramento clinico in pazienti affetti da ictus in fase cronica e con grave deficit motorio dell'arto superiore.

I dati ottenuti hanno altresì rivelato che la stimolazione magnetica inibitoria cTBS, erogata sulla corteccia motoria dell'emisfero colpito dall'ictus, non determina alcun vantaggio aggiuntivo rispetto alla terapia robotica applicata. Considerando l'outcome primario, infatti, non si è messa in evidenza alcuna significativa differenza nel confronto tra il gruppo sottoposto a real cTBS e quello sham cTBS.

Il miglioramento delle performance motorie secondo il punteggio Fugl-Meyer è stato significativo, in entrambi i gruppi, nelle valutazioni effettuate subito dopo la fase di trattamento (post) e nel follow-up ad 1 mese dalla fine del protocollo riabilitativo.

Nel follow-up condotto a 3 mesi è segnalato ancora un miglioramento, ma il dato non raggiunge la significatività statistica, probabilmente a causa dell'elevata variabilità dei parametri misurati.

La variazione del punteggio medio Fugl-Meyer è stata piuttosto limitata (3-4 punti, corrispondete al 5%). In realtà, l'aumento del Fugl-Meyer score viene considerato clinicamente significativo se pari almeno a 5 punti (*Page et al, 2012*). Tuttavia questo valore soglia era stato definito per pazienti che presentavano un deficit residuo in arto superiore di grado lieve-moderato.

Nella nostra popolazione di studio, con un deficit grave e stabilizzato dell'arto superiore, potrebbe invece essere considerata significativa

anche una variazione del punteggio Fugl-Meyer di grado minore (*Lo et al, 2010*).

In ogni caso, se considerassimo significativo un cambiamento nella Fugl-Meyer di almeno 5 punti, è da sottolineare come la percentuale di pazienti che raggiungono tale soglia di outcome è più alta nel gruppo REAL (3 pazienti su 8; 38%) rispetto al gruppo SHAM (2 pazienti su 9; 22%). Tale dato non raggiunge la significatività statistica nell'ambito della nostra popolazione studiata, ed è stato calcolato che la differenza tra i 2 gruppi sarebbe stata significativa con un campione di pazienti molto più numeroso (50 pazienti per gruppo, Power=80%, Type I error=0.05).

Può apparire interessante sottolineare che il miglioramento nel punteggio Fugl-Meyer medio documentato in studio risulta paragonabile a quello ottenuto in protocolli sperimentali che prevedevano un trattamento riabilitativo robotico di durata maggiore con (per esempio 36 sedute di 1 ora distribuite nell'arco di 12 settimane - *Lo et al, 2010* - oppure 24 sessioni in 8 settimane - *Klamroth-Marganska et al, 2014*).

I dati di questo studio appaiono in disaccordo con un precedente lavoro che aveva dimostrato che la cTBS dell'emisfero affetto era in grado di potenziare l'effetto della riabilitazione in pazienti con deficit moderato dell'arto superiore da ictus cronico (*Di Lazzaro et al, 2013*).

Diverse ipotesi possono essere avanzate per spiegare questa discrepanza. E' da considerare innanzitutto il cosiddetto "effetto tetto": è possibile che la riabilitazione con trattamento robotico riesca ad ottenere di per sé un beneficio già massimale nei pazienti con deficit di grado severo e che pertanto non possa essere ulteriormente potenziata dalla stimolazione transcranica (ceiling effect),

Una seconda possibilità è che, per raggiungere un effetto clinicamente significativo in pazienti con deficit grave, sia necessario un periodo di trattamento più lungo: non si può escludere che, in questo caso, l'associazione rTMS+terapia robotica possa mostrare un effetto sinergico più netto (*Daly et al. 2005*).

Un'ulteriore spiegazione può essere data dal fatto che l'emisfero cerebrale colpito da ischemia e l'emisfero sano sembrano giocare un ruolo differente nello stroke "grave" rispetto allo stroke "lieve": secondo questo modello di plasticità corticale, nei pazienti con deficit neurologico severo, l'emisfero non affetto sembrerebbe essere, tra i 2, quello maggiormente coinvolto nel recupero motorio mediante un'azione compensatoria (*Di Pino et al, 2014*). Secondo questa ipotesi, nel campione da noi studiato, che presentava un deficit residuo di grado severo, la stimolazione dell'emisfero lesa non ha portato ad alcun effetto sinergico per via del suo scarso peso nei fenomeni di re-learning motorio, ma si sarebbe potuto osservare un effetto migliore stimolando l'emisfero sano.

Un ultimo aspetto da considerare riguarda l'intensità della stimolazione magnetica cerebrale. L'intensità della cTBS è stata regolata in base alla soglia attiva (AMT) dell'emisfero sano: è possibile che, essendo l'emisfero sano ipereccitabile (e pertanto con AMT più bassa), l'intensità della stimolazione sia stata troppo bassa per permettere l'attivazione dei circuiti intracorticali della corteccia motoria colpita dalla lesione ischemica. Pertanto, sebbene questo protocollo di stimolazione sia stato in grado di produrre un effetto significativo in pazienti con ictus ischemico più lieve (*Di Lazzaro et al, 2013*), non si può escludere che per i pazienti di questo studio, il cui comune denominatore era una ischemia cerebrale grave, sarebbe stato preferibile utilizzare delle intensità di stimolazione più alte, al fine di ottenere l'effetto sinergico desiderato.

Lo studio degli indicatori robotici (outcomes secondari) ci ha permesso di comprendere più nel dettaglio gli effetti del trattamento robotico sul recupero motorio (*Pellegrino et al, 2012*).

In accordo con precedenti studi, (*Prange et al,2006; Kwakkel et al,2008; Lo et al, 2010*), i nostri dati confermano che la terapia robotica ha un effetto positivo sulle performance motorie, mantenuto nel tempo (follow-up 3 mesi) e quantificabile non solo clinicamente ma anche con l'ausilio degli stessi robot.

E' stato documentato un significativo miglioramento degli indicatori robotici del recupero motorio in tutti i pazienti: pertanto, come accadeva per l'outcome primario, senza un evidente effetto aggiuntivo della cTBS. L'unica eccezione in questo ambito è rappresentata dal parametro *Success Rate* (che indica la percentuale di volte in cui si raggiunge con precisione il target durante la sequenza di esercizi), del quale si è ottenuto un miglioramento statisticamente significativo nei pazienti del gruppo REAL, suggerendo un lieve beneficio della cTBS.

Sebbene gli altri parametri robotici non mostrino lo stesso effetto, non possiamo escludere che il *Success Rate*, essendo in qualche modo una "misura riassuntiva" degli altri indici motori, possa essere la variabile più adatta a quantificare l'eventuale effetto positivo della stimolazione transcranica (*Zollo et al,2011*).

Anche per questa ultima considerazione va in ogni caso tenuto presente che il valore del *Success Rate* al baseline risultava differente nei due gruppi: questa discrepanza ha potuto influenzare l'evoluzione successiva di questa variabile, osservata nei pazienti sottoposto a real cTBS.

## Conclusioni

I dati ottenuti da questo studio confermano che la terapia robotica è efficace nei pazienti con ictus in fase cronica e, per la prima volta, dimostra che un effetto positivo può essere ottenuto anche in pazienti con deficit grave dell'arto superiore, trattati per un periodo relativamente breve (*Di Lazzaro et al, 2016*).

La stimolazione cerebrale non invasiva, erogata con il protocollo inibitorio cTBS sull'emisfero affetto, al fine di indurre metaplasticità omeostatica, non ha prodotto alcun effetto sinergico alla terapia robotica nei pazienti con deficit grave, a differenza di quanto dimostrato precedentemente in pazienti con deficit lieve-moderato.

Questo potrebbe essere spiegato dal fatto che, nei pazienti gravi, l'emisfero sano rimane quello maggiormente coinvolto nei fenomeni di recupero motorio: di conseguenza, la strategia potenzialmente più efficace sarebbe quella di indurre i fenomeni di metaplasticità omeostatica in questo emisfero, anziché in quello colpito dall'ictus.

In alternativa, è possibile ipotizzare che altri protocolli di stimolazione cerebrale, diversi dalla cTBS, si rivelino utili alla induzione della metaplasticità omeostatica (*Cassidy et al., 2015*).

In conclusione, l'implementazione delle tecniche di stimolazione magnetica non-invasiva, come strumento di supporto per promuovere il recupero funzionale dopo danno ischemico, è quanto mai necessaria.

L'obiettivo è non solo quello di individuare i protocolli più efficaci, ma anche identificare le popolazioni di pazienti maggiormente responsive a ciascuna tipologia di trattamento individuato.



## APPENDICE

### NIHSS per la valutazione del paziente con ictus cerebrale

<i>Funzione da esaminare</i>	<i>Punteggi</i>
<b>1a. Livello di coscienza: vigilanza</b>	<b>0.</b> Vigile <b>1.</b> Soporoso, ma obbedisce, risponde o esegue in seguito a stimoli di modesta entità. <b>2.</b> Stuporoso, presta attenzione solo in seguito a stimolazioni ripetute, oppure compie movimenti (non stereotipati) in seguito a stimoli intensi o dolorosi. <b>3.</b> Gli stimoli suscitano solo risposte motorie riflesse o manifestazioni vegetative, oppure non c'è alcuna risposta.
<b>1b. Livello di coscienza: orientamento</b>	<b>0.</b> Risponde correttamente ad entrambe le domande. <b>1.</b> Risponde correttamente ad una delle due domande. <b>2.</b> Non risponde correttamente a nessuna delle due domande.
<b>1c. Livello di coscienza: comprensione ed esecuzione di ordini semplici</b>	<b>0.</b> Esegue correttamente entrambi gli ordini. <b>1.</b> Esegue correttamente uno dei due ordini. <b>2.</b> Non esegue correttamente nessuno dei due ordini.
<b>2. Sguardo</b>	<b>0.</b> Normale. <b>1.</b> Paralisi parziale dello sguardo orizzontale. Lo sguardo è anormale in uno od entrambi gli occhi, ma non c'è paralisi totale o deviazione forzata. <b>2.</b> Deviazione forzata dello sguardo, o paralisi totale. La manovra oculocefalica non riesce a spostare gli occhi oltre la linea mediana.
<b>3. Campo visivo</b>	<b>0.</b> Normale. Assenza di deficit campimetrici. <b>1.</b> Emianopsia parziale (quadrantopsia). <b>2.</b> Emianopsia completa. <b>3.</b> Emianopsia bilaterale

#### 4. Paralisi facciale

- 0. Assente. Movimenti facciali simmetrici.
- 1. Paresi lieve. Spianamento del solco naso-labiale. Asimmetria del sorriso.
- 2. Paresi parziale. Ipostenia totale o subtotale della metà inferiore della faccia.
- 3. Paralisi completa mono- o bilaterale. Assenza di movimenti della metà superiore ed inferiore della faccia.

#### 5a. Motilità dell'arto superiore sinistro

- 0. Nessuno slivellamento per 10".
- 1. Slivellamento (senza caduta) prima che siano trascorsi 10".
- 2. Caduta prima di 10".
- 3. Presenza di movimento a gravità eliminata.
- 4. Nessun movimento.
- NV. Amputazione o anchilosi (spiegare).

#### 5b. Motilità dell'arto

idem come sopra.

#### 6a. Motilità dell'arto inferiore sinistro

- 0. Nessuno slivellamento per 5".
- 1. Slivellamento (senza caduta) prima che siano trascorsi 5".
- 2. Caduta prima di 5".
- 3. Presenza di movimento a gravità eliminata.
- 4. Nessun movimento.
- NV. Amputazione o anchilosi (spiegare).

#### 6b. Motilità dell'arto

idem come sopra.

#### 7. Atassia degli arti

- 0. Assente.
- 1. Presente o all'arto superiore o all'inferiore.
- 2. Presente sia all'arto superiore che all'arto inferiore.
- NV. Amputazione o anchilosi (spiegare).

#### 8. Sensibilità

- 0. Normale.
- 1. Ipoestesia lieve o moderata. Il paziente riferisce che la puntura di spillo è meno acuta sul lato affetto, oppure non avverte sensazioni dolorose ma è consapevole di essere toccato.
- 2. Ipoestesia grave. Il paziente non sente di essere toccato sul lato affetto.

### **9. Linguaggio**

#### **0. Normale.**

**1.** Afasia da lieve a moderata. Nell'eloquio spontaneo, fluenza o comprensione sono un po' ridotte, ma le idee vengono espresse senza significative limitazioni. La conversazione sul materiale All. può essere difficile o impossibile, ma le risposte del paziente consentono di identificare la figura o gli oggetti denominati.

**2.** Afasia grave. L'espressione è frammentaria e l'ascoltatore è costretto a fare domande e a tentare di estrapolare i contenuti dalle risposte. La quantità di informazioni scambiata è modesta e la comunicazione è possibile solo grazie allo sforzo dell'ascoltatore. Le risposte del paziente non consentono di identificare la figura o gli oggetti denominati.

**3.** Muto, afasia totale. Fluenza e comprensione totalmente inefficaci.

### **10. Disartria**

#### **0. Assente.**

**1.** Disartria da lieve a moderata. Il paziente pronuncia male almeno alcune parole ma l'eloquio è comprensibile.

**2.** Disartria grave. L'articolazione della parola è talmente alterata da rendere l'eloquio incomprensibile, in assenza di afasia o in modo non spiegabile dall'entità dell'afasia. Il paziente può essere muto o anartrico.

**NV.** Intubato o altro impedimento fisico all'articolazione della parola (spiegare).

### **11. Inattenzione**

#### **0. Assente.**

**1.** Inattenzione visiva, tattile, uditiva, spaziale o corporea, oppure estinzione alla stimolazione bilaterale simultanea in una delle modalità sensoriali.

**2.** Grave emi-inattenzione o estinzione a più di una modalità. Non riconosce la propria mano o si rivolge solo ad un lato dello spazio.

<b>BARTHEL INDEX</b>
<p><b>Alimentazione</b>  0= incapace  5= necessita di assistenza, ad es. per tagliare il cibo  10= indipendente</p>
<p><b>Fare il bagno</b>  0= dipendente  5= indipendente</p>
<p><b>Igiene personale</b>  0= necessita di aiuto  5= Si lava la faccia, si pettina, si lava i denti, si rade</p>
<p><b>Vestirsi</b>  0= dipendente  5= necessita di aiuto ma compie almeno metà del compito in tempo ragionevole  10= indipendente, si lega le scarpe, usa le cerniere lampo, bottoni</p>
<p><b>Controllo del retto</b>  0= incontinente  5= occasionali incidenti o necessità di aiuto  10= continente</p>
<p><b>Controllo della vescica</b>  0= incontinente  5= occasionali incidenti o necessità di aiuto  10= continente</p>
<p><b>Trasferimenti nel bagno</b>  0= dipendente  5= necessita di qualche aiuto per l'equilibrio, vestirsi/svestirsi o usare carta igienica  10= indipendente con l'uso del bagno o della padella</p>
<p><b>Trasferimenti sedia/letto</b>  0= incapace, no equilibrio da seduto  5= in grado di sedersi, ma necessita della max assistenza per trasferirsi  10= minima assistenza e supervisione  15= indipendente</p>
<p><b>Deambulazione</b>  0= immobile  5= indipendente con la carrozzina per &gt; 45 m  10= necessita di aiuto di una persona per &gt; 45 m  15= indipendente per più di 45 m, può usare ausili ad eccezione del girello</p>
<p><b>Salire le scale</b>  0= incapace  5= necessita di aiuto o supervisione  10= indipendente, può usare ausili</p>
<p><b>TOTALE ( 0 – 100 )</b></p>

<b>SCALA DI RANKIN (MODIFICATA)</b>	
0	Nessun sintomo
1	Nessuna significativa disabilità: malgrado i sintomi è in grado di eseguire tutte le attività della vita quotidiana
2	Lieve disabilità: incapace di eseguire tutte le precedenti disabilità ma in grado di badare ai propri affari senza assistenza
3	Moderata disabilità: richiede un certo aiuto ma in grado di camminare senza assistenza
4	Disabilità moderatamente grave: incapace di camminare senza assistenza e incapace di badare alle proprie necessità corporee senza assistenza.
5	Disabilità grave: confinato a letto, incontinente, richiede costante assistenza infermieristica e attenzione
6	Deceduto

<b>SCALA DI ASHWORTH PER LA SPASTICITA'</b>	
<b>0</b>	nessun aumento del tono
<b>1</b>	aumento moderato del tono con "sensazione di gradino" quando l'arto è spinto in flessione o in estensione
<b>2</b>	aumento evidente del tono : l'arto può comunque essere facilmente flesso
<b>3</b>	aumento marcato del tono : i movimenti passivi risultano difficoltosi
<b>4</b>	arto rigido in flessione o in estensione

## Fugl-Meyer assessment upper extremity

### A. UPPER EXTREMITY, sitting position

<b>I. Reflex activity</b>		none	can be elicited
<b>Flexors:</b> biceps and finger flexors	0		2
<b>Extensors:</b> triceps	0		2

Subtotal I (max 4)

<b>II. Volitional movement within synergies</b> , without gravitational help		none	partial	full
<b>Flexor synergy:</b> Hand from contralateral knee to ipsilateral ear. From extensor synergy (shoulder adduction/ internal rotation, elbow extension, forearm pronation) to flexor synergy (shoulder abduction/ external rotation, elbow flexion, forearm supination).	Shoulder retraction	0	1	2
	elevation	0	1	2
	abduction (90°)	0	1	2
	external rotation	0	1	2
	Elbow flexion	0	1	2
	Forearm supination	0	1	2
<b>Extensor synergy:</b> Hand from ipsilateral ear to the contralateral knee	Shoulder adduction/internal rotation	0	1	2
	Elbow extension	0	1	2
	Forearm pronation	0	1	2

Subtotal II (max 18)

<b>III. Volitional movement mixing synergies</b> , without compensation		none	partial	full
<b>Hand to lumbar spine</b>	cannot be performed, hand in front of SIAS hand behind of SIAS (without compensation) hand to lumbar spine (without compensation)	0	1	2
<b>Shoulder flexion 0°-90°</b> elbow at 0° pronation-supination 0°	immediate abduction or elbow flexion abduction or elbow flexion during movement complete flexion 90°, maintains 0° in elbow	0	1	2
<b>Pronation-supination</b> elbow at 90° shoulder at 0°	no pronation/supination, starting position impossible limited pronation/supination, maintains position complete pronation/supination, maintains position	0	1	2

Subtotal III (max 6)

<b>IV. Volitional movement with little or no synergy</b>		none	partial	full
<b>Shoulder abduction 0 - 90°</b> elbow at 0° forearm pronated	immediate supination or elbow flexion supination or elbow flexion during movement abduction 90°, maintains extension and pronation	0	1	2
<b>Shoulder flexion 90°- 180°</b> elbow at 0° pronation-supination 0°	immediate abduction or elbow flexion abduction or elbow flexion during movement complete flexion, maintains 0° in elbow	0	1	2
<b>Pronation/supination</b> elbow at 0° shoulder at 30°-90° flexion	no pronation/supination, starting position impossible limited pronation/supination, maintains extension full pronation/supination, maintains elbow extension	0	1	2

Subtotal IV (max 6)

<b>V. Normal reflex activity</b> evaluated only if full score of 6 points achieved on part IV				
biceps, triceps, finger flexors	0 points on part IV or 2 of 3 reflexes markedly hyperactive 1 reflex markedly hyperactive or at least 2 reflexes lively maximum of 1 reflex lively, none hyperactive	0	1	2

Subtotal V (max 2)

<b>Total A</b> (max 36)				
-------------------------	--	--	--	--

<b>B. WRIST</b> support may be provided at the elbow to take or hold the position, no support at wrist, check the passive range of motion prior testing		none	partial	full
<b>Stability at 15° dorsiflexion</b> elbow at 90°, forearm pronated shoulder at 0°	less than 15° active dorsiflexion dorsiflexion 15°, no resistance is taken maintains position against resistance	0	1	2
<b>Repeated dorsiflexion / volar flexion</b> elbow at 90°, forearm pronated shoulder at 0°, slight finger flexion	cannot perform volitionally limited active range of motion full active range of motion, smoothly	0	1	2
<b>Stability at 15° dorsiflexion</b> elbow at 0°, forearm pronated slight shoulder flexion/abduction	less than 15° active dorsiflexion dorsiflexion 15°, no resistance is taken maintains position against resistance	0	1	2
<b>Repeated dorsiflexion / volar flexion</b> elbow at 0°, forearm pronated slight shoulder flexion/abduction	cannot perform volitionally limited active range of motion full active range of motion, smoothly	0	1	2
<b>Circumduction</b>	cannot perform volitionally jerky movement or incomplete complete and smooth circumduction	0	1	2
<b>Total B</b> (max 10)				

<b>C. HAND</b> support may be provided at the elbow to keep 90° flexion, no support at the wrist, compare with unaffected hand, the objects are interposed, active grasp		none	partial	full
<b>Mass flexion</b> from full active or passive extension		0	1	2
<b>Mass extension</b> from full active or passive flexion		0	1	2
<b>GRASP</b>				
<b>A – flexion in PIP and DIP (digits II-V) extension in MCP II-V</b>	cannot be performed can hold position but weak maintains position against resistance	0	1	2
<b>B – thumb adduction</b> 1-st CMC, MCP, IP at 0°, scrap of paper between thumb and 2-nd MCP joint	cannot be performer can hold paper but not against tug can hold paper against a tug	0	1	2
<b>C - opposition</b> pulpa of the thumb against the pulpa of 2-nd finger, pencil, tug upward	cannot be performer can hold pencil but not against tug can hold pencil against a tug	0	1	2
<b>D – cylinder grip</b> cylinder shaped object (small can) tug upward, opposition in digits I and II	cannot be performer can hold cylinder but not against tug can hold cylinder against a tug	0	1	2
<b>E – spherical grip</b> fingers in abduction/flexion, thumb opposed, tennis ball	cannot be performed can hold ball but not against tug can hold ball against a tug	0	1	2
<b>Total C</b> (max 14)				

<b>D. COORDINATION/SPEED</b> after one trial with both arms, blind-folded, tip of the index finger from knee to nose, 5 times as fast as possible		marked	slight	none
<b>Tremor</b>		0	1	2
<b>Dysmetria</b>	pronounced or unsystematic slight and systematic no dysmetria	0	1	2
		> 5s	2 - 5s	< 1s
<b>Time</b>	more than 5 seconds slower than unaffected side 2-5 seconds slower than unaffected side maximum difference of 1 second between sides	0	1	2
<b>Total D</b> (max 6)				

## BIBLIOGRAFIA

- Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia: the ischemic penumbra. *Stroke* 1981;12:723–725.
- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985 May 11;1(8437):1106-7.
- Berardelli A., Inghilleri M., Rothwell J.C., Romeo S., Currà A., Gilio F., Modugno N., Manfredi M., 1998. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung Expérimentation cérébrale* 122, 79–84.
- Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*. 1973 Jul;232(2):331-56
- Cassidy J.M., Chu H., Anderson D.C, Krach L.E., Snow L., Kimberley T. J., et al.(2015). A comparison of primed low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation treatments in chronic stroke. *Brain Stimul*. 8,1074–1084. doi:10.1016/j.brs.2015.06.007
- Centonze D, Rossi S, Tortiglione A, Picconi B, Prosperetti C, De Chiara V, Bernardi G, Calabresi P. Synaptic plasticity during recovery from permanent occlusion of the middle cerebral artery. *Neurobiol Dis*. 2007 Jul;27(1):44-53. Epub 2007 Apr 5.
- Cicinelli P, Traversa R, Rossini PM. Post-stroke reorganization of brain motor output to the hand: a 2-4 month follow-up with focal magnetic transcranial stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 438–450.
- Colombo R., Pisano F., Micera S., Mazzone A., Delconte C., Carrozza M., et al. (2008). Assessing mechanisms of recovery during robot-aided neurorehabilitation of the upper limb. *Neurorehabil.NeuralRepair* 22,50–63. doi:10.1177/1545968307303401
- Cooke SF, Bliss TV. Plasticity in the human central nervous system. *Brain*. 2006 Jul;129(Pt 7):1659-73. Epub 2006 May 3.
- Daly J., Hogan N., Perepezko E.M., Krebs H.I., Rogers J.M., Goyal K.S., et al.(2005). Response to upper-limb robotics and functional neuromuscular stimulation following stroke. *J.Rehabil.Res.Dev*. 42,723–736. doi:10.1682/JRRD.2005.02.0048
- Demirtas-Tatlidedea A., Alonso-Alonso M., Shetty R.P., Ronenc I., Pascual- Leone A., and Fregni F.(2015). Long-term effects of contralesional rTMS in severe stroke: safety, cortical excitability and relationship with transcallosal motor fibers. *NeuroRehabilitation* 36,51–59. doi:10.3233/NRE-141191
- Dewey HM, Sherry LJ, Collier JM. Stroke rehabilitation 2007: what should it be? *Int J Stroke* 2007; 2: 191-200
- Di Filippo M, Tozzi A, Costa C, Belcastro V, Tantucci M, Picconi B, Calabresi P. Plasticity and repair in the post-ischemic brain. *Neuropharmacology*. 2008 Sep;55(3):353-62.



- Di Lazzaro V, Profice P, Pilato F., Capone F., Ranieri F., Pasqualetti P., et al. (2010). Motor cortex plasticity predicts recovery in acute stroke. *Cereb.Cortex* 20,1523–1528.doi:10.1093/cercor/bhp216
- Di Lazzaro V., 2005. Theta-burst repetitive transcranial magnetic stimulation suppresses specific excitatory circuits in the human motor cortex. *The Journal of Physiology* 565, 945–950.
- Di Lazzaro V., Dileone M., Capone F., Pellegrino G, Ranieri F., Musumeci G., et al.(2014). Immediate and late modulation of interhemispheric imbalance with bilateral transcranial direct current stimulation in acute stroke. *BrainStimul.* 7, 841–848.doi:10.1016/j.brs.2014.10.001
- Di Lazzaro V., Dileone M., Profice P., Pilato F., Cioni B., Meglio M., Capone F., Tonali P.A., Rothwell J.C., 2006. Direct demonstration that repetitive transcranial magnetic stimulation can enhance corticospinal excitability in stroke. *Stroke* 37, 2850–2853.
- Di Lazzaro V., John C. Rothwell, Penelope Talelli, Fioravante Capone, Federico Ranieri, Amanda C. Wallace, Gabriella Musumeci, Michele Dileone, Inhibitory theta burst stimulation of affected hemisphere in chronic stroke: A proof of principle, sham-controlled study, *Neuroscience Letters*, Volume 553, 11 October 2013, Pages 148–152.
- Di Lazzaro V., Oliviero A., Pilato F., Saturno E., Dileone M., Mazzone P., Insola A., Tonali P.A., Rothwell J.C., 2004. The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clin Neurophysiol* 115, 255–266.
- Di Lazzaro V., Pilato F., Dileone M., Profice P., Oliviero A., Mazzone P., Insola A., Ranieri F., Meglio M., Tonali P.A., Rothwell J.C., 2008. The physiological basis of the effects of intermittent theta burst stimulation of the human motor cortex. *The Journal of Physiology* 586, 3871–3879.
- Di Lazzaro V., Profice P., Pilato F., Capone F., Ranieri F., Pasqualetti P., Colosimo C., Pravata E., Cianfoni A., Dileone M., 2010. Motor cortex plasticity predicts recovery in acute stroke. *Cerebral Cortex* 20, 1523–1528.
- Di Lazzaro V., Rothwell J.C., Talelli P., Federico R., Wallace A.C., Musumeci G, et al.(2013). Inhibitory theta burst stimulation of affected hemisphere in chronic stroke: a proof of principle sham-controlled study. *Neurosci.Lett.* 553, 148–152.doi:10.1016/j.neulet.2013.08.013
- Di Lazzaro V, Capone F, Di Pino G, Pellegrino G, Florio L, Zollo L, Simonetti D, Ranieri F, Brunelli N, Corbetto M, Miccinilli S, Bravi M, Milighetti S, Guglielmelli E, Sterzi S (2016) Combining robot training and non-invasive brain stimulation in severe upper limb-impaired chronic stroke patients. *Front Neurosci.* 2016; 10: 88.
- Di Pino G, Pellegrino G., Assenza G., Capone F., Ferreri F., Formica D., et al.(2014). Modulation of brain plasticity in stroke: a novel model for neurorehabilitation. *Nat.Rev.Neurol.* 10,597–608.doi: 10.1038/nrneurol.2014.162
- Di Pino G., Pellegrino G., Capone F., and Di Lazzaro V. (2014). Human cerebral cortex metaplasticity and stroke recovery. *AustinJ.Cerebrovasc.Dis. Stroke* 1:2.
- Edward C. Jauch, MD, MS, FAHA, Chair; Jeffrey L. Saver, MD, FAHA, Vice Chair; Harold P.

Adams, Jr, MD, FAHA; Askiel Bruno, MD, MS; J.JConnors, MD; Bart M. Demaerschalk, MD, MSc; Pooja Khatri, MD, MSc, FAHA; Paul W. McMullan, Jr, MD, FAHA; Adnan I. Qureshi, MD, FAHA; Kenneth Rosenfield, MD, FAHA; Phillip A. Scott, MD, FAHA; Debbie R. Summers, RN, MSN, FAHA; David Z. Wang, DO, FAHA; Max Wintermark, MD; Howard Yonas, MD. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013;44:870-947

- Ferraro M, Palazzolo JJ, Krol J, Krebs HI, Hogan N, Volpe BT. Robot-aided sensorimotor arm training improves outcome in patients with chronic stroke. *Neurology*. 2003;61:1604–1607.
- Flash T., and Hogan N. (1985). The coordination of arm movements: an experimentally confirmed mathematical model. *J.Neurosci*. 5, 1688–1703
- Fregni F., Boggio P.S., Valle A.C., Rocha R.R., Duarte J., Ferreira M.J.L., Hummel FC, Cohen LG. Non-invasive brain stimulation: a new strategy to improve neurorehabilitation after stroke? *Lancet Neurol* 2006; 5: 708-712
- Fugl-Meyer AR, Jääskö L, Leyman I, Olsson S, Steglind S. The post-stroke hemiplegic patient. 1. a method for evaluation of physical performance. *Scand J Rehabil Med*. 1975;7(1):13-31
- Gerzeli S, Tarricone R, Zolo P, Colangelo I, Busca MR, Gandolfo C. The economic burden of stroke in Italy. The EcLIPSE Study: Economic Longitudinal Incidencebased Project for Stroke Evaluation. *Neurol. Sci*. 2005; 26: 72–80.
- Gresham GE, Duncan PW, Stason WB, Adams HP, Jr., Adelman AM, Alexander DN, et al. Post-Stroke Rehabilitation. Clinical Practice Guideline, No. 16. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, Agency for Health Care Policy and Research; Rockville, MD: 1995. AHCPR Publication No. 95-0662
- Gualtierotti T, Paterson AS. Electrical stimulation of the unexposed cerebral cortex. *J Physiol*. 1954 Aug 27;125(2):278-91.
- Hallett, *Brain Res Rev*, 2001 Cohen et al, *Handbook of neurological Rehabilitation*, 2003
- Hess C W, Mills K R, Murray N M. Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. *J Physiol*. Jul 1987; 388: 397–419.
- Hill M.D., Hachinski V. Stroke treatment: time is brain. *The Lancet* 1998; 352: 1-4
- Huang Y.-Z., Chen R.-S., Rothwell J.C., Wen, H.-Y., 2007. The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. *Clinical Neurophysiology* 118, 1028–1032.
- Huang Y.-Z., Edwards M.J., Rounis E., Bhatia K.P., Rothwell J.C., 2005. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron* 45, 201–206.
- Jung P, Ziemann U., Homeostatic and nonhomeostatic modulation of learning in human motor cortex. *Neurosci*. 2009 Apr 29;29(17):5597-604
- Jung P., and Ziemann U.(2009). Homeostatic and non homeostatic modulation of learning in

human motor cortex. *J.Neurosci.* 29,5597–5604.doi: 10.1523/JNEUROSCI.0222-09.2009

- Kinsbourne M. Mechanisms of hemispheric interaction in man. In: Kinsbourne M, Smith WL, editors. Hemispheric disconnection and cerebral function. Springfield: Thomas, 1974: 260-285
- Klamroth-Marganska V., Blanco J., Campen K, Curt A., Dietz V., Ettl T., et al.(2014). Three-dimensional task-specific robot therapy of the arm after stroke: a multicenter parallel-group randomized trial. *LancetNeurol.* 13, 159–166.doi:10.1016/S1474-4422(13)70305-3
- Krebs H. I., Volpe B.T., Williams D., Celestino J., Charles S. K., Lynch D., Hogan N., Robot-Aided Neurorehabilitation: A robot for Wrist Rehabilitation, *IEEE Transaction on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*
- Kwakkel G., Kollen B.J., and Krebs H.I.(2008). Effects of robot-assisted therapy on upper limb recovery after stroke: a systematic review. *Neurorehabil. Neural Repair.* 22,111–121.doi:10.1177/1545968307305457
- Latchaw RE, Mark JA, Lev MH, Connors JJ et al. Recommendation for Imaging of Acute Ischemic Stroke: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Stroke* 2009; 40:3646-3678
- Lennet W.B., Harper A.M. Measurement of regional cerebral blood flow during carotid ligation. *Lancet* 1996
- Liepert J, Restemeyer C, Kucinski T, Zittel S, Weiller C. Motor strokes: the lesion location determines motor excitability changes. *Stroke* 2005; 36: 2648–2653.
- Lo A.C., Guarino P., Richards L.G., Haselkorn J.K., Wittenberg G. F., Federman D.G., et al. (2010). Robot-assisted therapy for long-term upper-limb impairment after stroke. *N.Engl.J.Med.* 362,1772–1783.doi: 10.1056/NEJMoa0911341
- Malenka R.C., and Bear M.F.(2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44,5–21.doi:10.1016/j.neuron.2004.09.012
- Malleret G., Alarcon J.M., Martel G., Takizawa S., Vronskaya S., Yin D., Chen I.Z., Kandel E.R., Shumyatsky G.P., 2010. Bidirectional regulation of hippocampal long-term synaptic plasticity and its influence on opposing forms of memory. *Journal of Neuroscience* 30, 3813–3825.
- Masiero S, Celia A, Rosati G, Armani M. Robotic-assisted rehabilitation of the upper limb after acute stroke. *ArchPhysMedRehabil* 2007;88:142-9. 4.
- Massey P.V., Bashir Z.I., 2007. Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci.* 30, 176–184.
- Meehan SK, Dao E, Lindsell MA, Boyd LA. Continuous theta burst stimulation over the contralesional sensory and motor cortex enhances motor learning post-stroke. *Neurosci Lett.* 2011 Aug 1;500(1):26-30
- Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature.* 1980 May 22;285(5762):227.

- Müller J. F. M., Orekhov Y., Liu Y. and Ziemann U. (2007), Homeostatic plasticity in human motor cortex demonstrated by two consecutive sessions of paired associative stimulation. *European Journal of Neuroscience*, 25: 3461–3468
- Murase N., Duque J., Mazzocchio R., Cohen L.G., 2004. Influence of interhemispheric interactions on motor function in chronic stroke. *Ann Neurol*. 55, 400–409.
- Nudo R.J., Friel K.M., Cortical plasticity after stroke: implications for rehabilitation. *Revue Neurologique*. 1999
- Page S.J., Fulk G.D. and Boyne P.(2012). Clinically important differences for the upper-extremity Fugl-Meyer Scale in people with minimal to moderate impairment due to chronic stroke. *Phys.Ther.* 92,791–798.doi: 10.2522/ptj.20110009
- Panarese A., Colombo R., Sterpi I., Pisano F., and Micera S.(2012). Tracking motor improvement at the subtask level during robot-aided neurorehabilitation of stroke patients. *Neurorehabil.NeuralRepair* 26,822–833. doi:10.1177/1545968311431966
- Pascual-Leone A, Wassermann EM, Hallett M. Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1992 Dec;85(6):355-64.
- Pascual-Leone, A., Valls-Solé, J., Wassermann, E.M., Hallett, M., 1994. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 117 ( Pt 4), 847–858.
- Paulson O.B., Stranggaard S., Edvinsson L. Cerebral Autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metabol Rev* 1990; 2: 161-192.
- Pellegrino G., Tomasevic L., Tombini M., Assenza G., Bravi M., Sterzi S.,etal.(2012). Inter-hemispheric coupling changes associate with motor improvements after robotic stroke rehabilitation. *Restor.Neurol.Neurosci.* 30, 497–510.doi:10.3233/RNN-2012-120227
- Pollock A, Baer G, Pomeroy V, Langhorne P. Physiotherapy treatment approaches for the recovery of postural control and lower limb function following stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2007: CD001920
- Prange G.B., Jannink M.J., Groothuis-Oudshoorn C.G., Hermens H.J., and IJzerman M.J.(2006). Systematic review of the effect of robot-aided therapy on recovery of the hemiparetic arm after stroke. *J.Rehabil.Res.Dev.* 43,171. doi:10.1682/JRRD.2005.04.0076
- Prange JB, Jannik MJ, Groothuis-Oudshoorn CG, Hermens HJ, Ijzerman MJ. Systematic review of the effect of robot-aided therapy on recovery of the hemiparetic arm after stroke. *J Rehabil Res Dev* 2006;43:171-84.
- Ridding M.C., Rothwell J.C., 2007. Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? *Nat Rev Neurosci* 8, 559–567.
- Rioult-Pedotti M.S., Friedman D., and Donoghue J.P.(2000). Learning- induced LTP in neocortex. *Science* 290,533–536.doi:10.1126/science.290.54 91.533
- Rohrer B., Fasoli S., Krebs H.I., Hughes R., Volpe B., Frontera W. R.,et al. (2002).Movement

smoothness changes during stroke recovery. *J.Neurosci.* 22, 8297–8304

- Sciolla R, Ferrari G, Leone M, SINPAC (Società INter-regionale Piemonte e Valle d'Aosta per le Cerebrovasculopatie) Group. Stroke and transient ischaemic attack in 18 neurology departments from two Italian Regions: the SINPAC database. *Neurol. Sci.* 2005; 26: 208–217.
- Talelli P, Greenwood RJ, Rothwell JC. Exploring theta burst stimulation as an intervention to improve motor recovery in chronic stroke. *Clin Neurophysiol.* 2007;118:333-342
- Traversa R, Cicinelli P, Pasqualetti P, Filippi M, Rossini PM. Follow-up of interhemispheric differences of motor evoked potentials from the 'affected' and 'unaffected' hemispheres in human stroke. *Brain Res* 1998; 803: 1–8.
- Valls-Solé, J., Wassermann EM, Samii A, Mercuri B, Ikoma K, Oddo D, Grill SE, Hallett M. Responses to paired transcranial magnetic stimuli in resting, active, and recently activated muscles. *Exp Brain Res.* 1996 Apr;109(1):158-63.
- Wade D. Measurement in neurological rehabilitation. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1996.
- Wagner T., Fecteau S., Rigonatti S.P., Riberto M., Freedman S.D., Pascual-Leone A., 2006. A sham-controlled trial of a 5-day course of repetitive transcranial magnetic stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Stroke* 37, 2115–2122.
- Ward NS, Cohen LG. Mechanisms underlying recovery of motor function after stroke. *Arch Neurol* 2004; 61: 1844-1848
- Wardlaw JM, Murray VE, Berge E, del Zoppo GJ. Thrombolysis in acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2009.
- Wassermann E.M., Wedegaertner F.R., Ziemann U., George M.S., Chen R., 1998. Crossed reduction of human motor cortex excitability by 1-Hz transcranial magnetic stimulation. *Neuroscience Letters* 250, 141–144.
- Zaninelli A., Gensini G., SPREAD Stroke Prevention And Educational Awareness Diffusion, VI Edizione. ed. VI Edizione. 2010.
- Zollo L., Gallotta E., Guglielmelli E., and Sterzi S. (2011). Robotic technologies and rehabilitation: new tools for upper-limb therapy and assessment in chronic stroke. *Eur.J.Phys.Rehabil.Med.* 47,223–236.