



**UNIVERSITÀ  
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN  
PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE

ATTIVAZIONE DEL SISTEMA DEI NEURONI SPECCHIO IN PAZIENTI IN STATO  
VEGETATIVO E IN STATO DI MINIMA COSCIENZA: UNO STUDIO PILOTA DI  
RISONANZA MAGNETICA FUNZIONALE

Relatore:

*Chiar.mo Prof. LEONARDO FOGASSI*

Correlatore:

*Dott. ANTONINO ERRANTE*

Laureanda:  
*SILVIA RAPINO*

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

*A mia madre e mio padre*

# INDICE

Introduzione .....	2
1 Il Sistema dei Neuroni Specchio .....	4
1.1. Il sistema motorio in rapporto agli oggetti, allo spazio e agli altri.....	5
1.1.1 La corteccia motoria.....	5
1.1.2 Il cervello che agisce .....	8
1.1.3 Neuroni canonici e neuroni specchio .....	9
1.1.4 I neuroni specchio nell'uomo .....	14
1.1.5 I meccanismi dell'imitazione e dell'apprendimento .....	15
1.2 AOT-Action Observation Therapy .....	22
1.2.1 L'AOT come strumento riabilitativo. Base neurofisiologica dell'azione di tale trattamento.....	23
2 Disturbo dello stato di coscienza (DOC).....	30
2..1 Quale nome dare a questi pazienti?.....	30
2.2 Differenza tra morte cerebrale, coma, stato vegetativo e stato di minima coscienza.....	32
2.3 Scale di valutazione per i DOC.....	38
2.4 Disordini di coscienza: terapia basata sull'approccio della neurostimolazione.....	40
2.5 L'importanza delle metodiche strumentali nello studio dei pazienti con DOC.....	42
3 Attivazione del Sistema dei Neuroni Specchio in pazienti in stato vegetativo e in stato di minima coscienza: uno studio pilota di Risonanza Magnetica Funzionale .....	53
3.1. Ipotesi e Obiettivi della ricerca .....	53
3.2. Materiali e metodi .....	54
3.2.1. Pazienti .....	54
3.2.2. Valutazione dei disordini di coscienza .....	54
3.2.3 Paradigma sperimentale e compiti .....	56
3.2.4 Procedura sperimentale.....	60
3.3. Gli strumenti .....	60
3.3.1Acquisizione delle immagini di risonanza.....	60
3.3.2 Analisi statistica dei dati.....	60
3.4 Risultati.....	61
3.4.1 Descrizione clinica dei pazienti e indagine morfologica.....	61
3.4.2 Analisi dei movimenti spontanei.....	65
3.4.3 Attivazioni cerebrali durante il compito audio-visivo.....	66
3.4.4 Attivazioni cerebrali durante il compito linguistico.....	69
3.5 Discussione.....	72
3.5.1 Considerazioni specifiche.....	74
3.5.2 Implicazioni sull'utilizzo di questi paradigmi in termini riabilitativi.....	76
Bibliografia .....	78

# Introduzione

I pazienti con disordini di coscienza (DOC) possono essere classificati in stato vegetativo (VS) o in stato di minima coscienza (MCS). Al momento, l'approccio neuroriabilitativo principale continua ad essere limitato a causa dell'incapacità dei pazienti di compiere movimenti volontari. La riabilitazione dei pazienti con DOC è un tema importante da affrontare con un programma completo mirato ad aumentare il recupero funzionale dei pazienti. L'efficacia di un programma di riabilitazione intensivo di tipo sensoriale, ad esempio, è stata dimostrata in diversi studi (Padilla and Domina, 2006).

In questi ultimi anni, è stato introdotto un approccio terapeutico innovativo basato sulla scoperta del Sistema dei Neuroni Specchio (MNS), una rete neurale parieto-frontale che si attiva sia durante l'esecuzione che durante l'osservazione di azioni finalizzate. Quest'approccio terapeutico è chiamato Action Observation Therapy (AOT) ed è basato su un paradigma di osservazione di azioni, seguite dalla loro immediata riproduzione. Virtualmente, l'AOT può avere effetti favorevoli sulla riabilitazione motoria in pazienti adulti e bambini affetti da vari tipi di disturbi motori in cui non è possibile effettuare un training differente, a causa della presenza di dolore cronico, infiammazione, fatica muscolare ecc. (Ertelt et al. 2007; Buccino et al. 2012; Sgandurra et al., 2013).

Il principale obiettivo del presente progetto di ricerca proposto è quello di investigare le basi neuronali del sistema dei Neuroni Specchio nei pazienti con DOC per individuare la presenza di attività funzionale nelle regioni cerebrali parieto-frontali, misurando il segnale BOLD durante lo svolgimento di compiti passivi in risonanza magnetica. In particolare lo studio prevede lo svolgimento di due tipi di compiti: un compito audio visivo di osservazione e ascolto di azioni di bocca transitive e intransitive, e un compito di ascolto di verbi, d'azione e astratti. Si tratta di uno studio pilota ancora in corso presso l'Istituto Carlo Besta di Milano in collaborazione con il dipartimento di Medicina e Chirurgia dell'Università di Parma. L'ipotesi è che anche nei pazienti con DOC si possa osservare la presenza residua di attivazioni funzionali del Sistema Specchio. Qualora l'ipotesi fosse dimostrata questo rappresenterebbe il substrato neurale alla base dell'uso dell'AOT come approccio riabilitativo in questa tipologia di pazienti.

Nel primo capitolo si descriverà il Sistema dei Neuroni Specchio a partire dal Sistema Motorio, fino ad arrivare ai meccanismi dell'imitazione nell'uomo. Poi ci si addenterà nel descrivere l'AOT come strumento riabilitativo, anche se questa ricerca non ha a che fare direttamente con questo tipo di

terapia.

Nel secondo capitolo si analizzerà il disturbo dello stato di coscienza (DOC) e si osserveranno alcuni studi realizzati sui pazienti DOC, per dimostrare l'importanza delle metodiche strumentali e di vari approcci neuroriabilitativi in questi pazienti.

Nel terzo capitolo verrà presentato il progetto di ricerca in tutte le sue fasi sperimentali, fino alla discussione dei risultati ottenuti tramite l'analisi statistica dei dati.

# Capitolo 1

## Il Sistema dei Neuroni Specchio

La scoperta dei Neuroni Specchio, ha aperto nuove strade alla comprensione delle basi neurofisiologiche dell'azione, del linguaggio e delle abilità neuropsicologiche. Tale sistema, infatti, ha fornito un modello neurale alla base del quale si ottiene l'integrazione delle informazioni sensoriali e motorie e l'elaborazione di processi dapprima considerati esclusivamente di ordine superiore e attribuiti al sistema cognitivo, quali la percezione e il riconoscimento di atti altrui, l'imitazione e la comunicazione; tali processi, attraverso il sistema dei Neuroni Specchio, riconoscono nel sistema motorio il proprio substrato neurale primario. Con l'identificazione dei Neuroni Mirror si è dimostrato che il sistema motorio non svolge solo funzioni esecutive, non implica più necessariamente l'esercizio di un movimento, condotto in maniera passiva o attiva, ma può avvalersi anche di nuove modalità, ponendo le basi per una nuova interpretazione del concetto di recupero del sistema motorio.

Numerose evidenze ipotizzano che una disfunzione a livello dei Neuroni Mirror sia la base di alcuni disturbi che si verificano in età evolutiva, in particolare: a) della ridotta capacità di imitazione, la quale determina un'incapacità nella comprensione degli stati mentali altrui nel Disturbo dello Spettro Autistico; b) della ridotta capacità di percezione e produzione di movimenti linguistici e gestuali; c) della diminuita capacità dell'individuo di rappresentarsi internamente l'atto motorio da compiere, come avviene nel Disturbo di Coordinazione Motoria. Da ciò, si percepisce come lo sviluppo motorio, cognitivo e del linguaggio siano strettamente collegati: parallelamente all'emergenza del gesto ed al raggiungimento delle tappe motorie si accrescono le capacità linguistiche e cognitive, mentre nell'ambito della patologia frequentemente i disturbi motori si associano a quelli cognitivi e neuropsicologici. Recentemente numerosi studi hanno testato l'ipotesi che l'unione fra trattamento rieducativo standard e training imitativo porta a conseguire risultati maggiori rispetto al solo trattamento classico. Ultimamente hanno dimostrato che l'osservazione sistematica di azioni quotidiane, seguita dalla loro imitazione (Action Observation Therapy) può essere utile per migliorare le prestazioni motorie in soggetti adulti con esiti di stroke ischemico in fase cronica, in pazienti con Morbo di Parkinson, nelle Paralisi Cerebrali Infantili e, nell'ambito delle malattie non neurologiche, ad esempio nei pazienti che hanno subito un intervento chirurgico. La possibilità dell'intervento riabilitativo tramite training basato sull'apprendimento, osservazione delle azioni e imitazione sembra aprire nuove frontiere nel campo della rieducazione di questi

disturbi, sia dell'età evolutiva che adulta.

## **1.1 Il Sistema Motorio in rapporto agli oggetti, allo spazio e agli altri**

### **1.1.1 La corteccia motoria**

Gli esperimenti avviati agli inizi degli anni '80 dal gruppo di ricercatori dell'Istituto di Fisiologia di Parma diretto da Giacomo Rizzolatti evidenziarono l'esistenza nella corteccia premotoria della scimmia di neuroni che vengono attivati durante l'esecuzione non di singoli movimenti, ma di azioni, cioè di atti motori finalizzati. Partiamo da un gesto semplice quale l'*afferramento*. L'oggetto, per esempio una tazza, suggerisce un insieme di misure e di modalità di afferramento, sta all'uomo rispondere e decidere come muoversi e conformarsi ad esse, assumendo tra le prese possibili quella più idonea all'uso. Anche senza accorgersene, ancor prima di raggiungere l'oggetto, le dita e il palmo della mano hanno già cominciato a prefigurare la conformazione geometrica della porzione dell'oggetto interessata, in questo caso la tazza, e gli eventuali tipi di prensione. L'analisi dei meccanismi neurali sottostanti ad un atto elementare come l'*afferrare* ha portato a rivedere soprattutto negli ultimi vent'anni alcuni aspetti chiave del modo di concepire il funzionamento del cervello in particolare per quanto riguarda l'organizzazione del sistema motorio e le relazioni funzionali che esso ha con i restanti sistemi in cui si spiega l'attività cerebrale. A lungo si è ritenuto che i fenomeni sensoriali, percettivi e motori fossero ripartiti in aree corticali nettamente distinte: da un lato le *aree sensoriali* dunque le visive, le somatosensoriali, uditive ecc... dall'altro lato le *aree motorie* situate nella parte posteriore del lobo frontale (*corteccia frontale agranulare*). Tra le prime e le seconde sono interposte varie regioni corticali definite come *aree associative*, ad esse spetterebbe il compito di “mettere insieme” le informazioni provenienti dalle diverse aree sensoriali e di formare “percetti” oggettuali e spaziali da inviare alle aree motorie per l'organizzazione dei vari movimenti. Il sistema motorio avrebbe così un ruolo periferico ed eminentemente esecutivo, come risulta dalle mappe funzionali come per esempio il classico Homunculus di Penfield, ottenuto tramite la stimolazione elettrica della corteccia motoria dell'uomo nella metà del Novecento. L'Homunculus distingue due aree motorie: l'*area motoria primaria* (MI) e l'*area motoria supplementare* (SMA), caratterizzate da una rappresentazione completa dei movimenti, più dettagliata in MI, più grossolana in SMA. Queste mappe però non erano in pieno accordo con l'organizzazione citoarchitettonica della parte posteriore del lobo frontale dei primati delineata da Brodmann all'inizio del Novecento, che ripartiva questa regione del lobo frontale in aree diverse (area 4 e area 6) sulla base della distribuzione delle cellule piramidali. Woolsey proponeva che i movimenti della mano, i movimenti fini della bocca e del piede (movimenti distali) sarebbero

localizzati nell'area 4, mentre i movimenti delle braccia, delle gambe (movimenti prossimali) e i movimenti del tronco (assiali) nell'area 6.

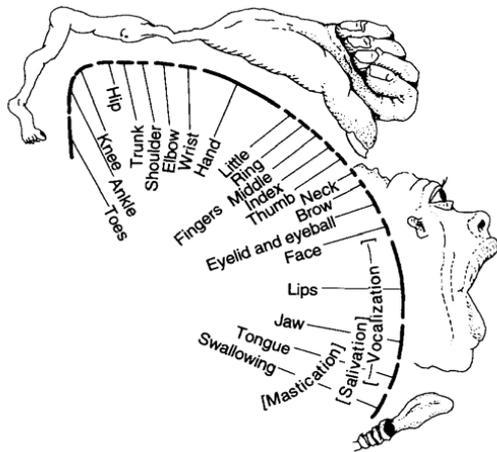


Figura 1: Homunculus di Wilder Penfield

Lungi dall'essere organizzata in due sole aree (MI e SMA), la corteccia motoria risulta formata da una costellazione di regioni diverse. Se confrontiamo un'odierna parcellizzazione anatomico-funzionale della *corteccia agranulare* notiamo che la corteccia motoria primaria corrisponde all'area 4 di Brodmann. L'area 6 appare distinta in tre regioni principali (*mesiale, dorsale, ventrale*), la regione mesiale è formata dalle aree F3 (SMA) e F6 (preSMA); quella dorsale dalle aree F2 e F7; infine quella ventrale dalle aree F4 e F5. In particolare, l'area F3 contiene una rappresentazione completa dei movimenti del corpo, l'area F6 viene stimolata solo da correnti di maggior intensità e le risposte motorie consistono in movimenti lenti e complessi, limitati al braccio. L'area F2 presenta un'organizzazione somatotopica sommaria (con la gamba rappresentata dorsalmente e il braccio centralmente). Infine, per quanto riguarda la zona ventrale, l'area F4 e F5 (quelle di cui ci occuperemo nei prossimi paragrafi) sono entrambe elettricamente eccitabili, ma se le rappresentazioni della prima riguardano braccio, collo e movimenti della faccia, quelle della seconda investono prevalentemente mano e bocca.

Occorre però considerare anche le connessioni di queste aree con altre aree motorie e con le aree corticali al di fuori della corteccia frontale agranulare, dunque è importante osservare l'organizzazione delle loro proiezioni ai centri sottocorticali e al midollo spinale. Le aree motorie situate nella parte posteriore della corteccia frontale agranulare (F2 e F5) sono direttamente connesse a F1. Le aree motorie anteriori (F6 e F7), invece, non proiettano a F1, ma hanno ricche connessioni con le altre aree motorie, queste due aree non sono connesse al midollo spinale ma proiettano ad altre parti dell'encefalo, e ciò significa che, diversamente dalle aree posteriori, possono controllare il movimento solo indirettamente.

Le aree della corteccia frontale agranulare ricevono afferenze corticali da tre regioni principali: il *lobo prefrontale*, la *corteccia del cingolo* e il *lobo parietale*. Il lobo prefrontale svolge un ruolo significativo nelle funzioni di ordine superiore come la memoria di lavoro e la pianificazione temporale delle azioni, inoltre un'altra funzione che viene ad esso attribuita è quella relativa alla coerenza delle intenzioni. La corteccia del cingolo è coinvolta nell'elaborazione delle informazioni motivazionali e affettive, che intervengono nella genesi delle intenzioni. Per quanto riguarda il lobo parietale posteriore dei primati, esso è suddiviso da un solco (*solco intraparietale IP*) in due settori principali: *lobo parietale superiore* (SPL) e *lobo parietale inferiore* (IPL). Entrambi i lobi sono formati da una molteplicità di aree indipendenti, ciascuna delle quali appare deputata ad elaborare determinati aspetti dell'informazione sensoriale e risulta connessa ad effettori specifici. Alcune aree sono legate a modalità somatosensoriali, altre a modalità visive e altre ancora ad entrambe. Le aree posteriori, dunque, ricevono dal lobo parietale informazioni sensoriali che vengono usate per l'organizzazione e il controllo del movimento. Alle aree anteriori, invece, giungono scarse informazioni sensoriali, quindi è improbabile che esse svolgano un ruolo significativo nelle trasformazioni sensori-motorie. D'altro canto queste aree ricevono informazioni cognitive di ordine superiore legate alla pianificazione temporale delle azioni o alle motivazioni.

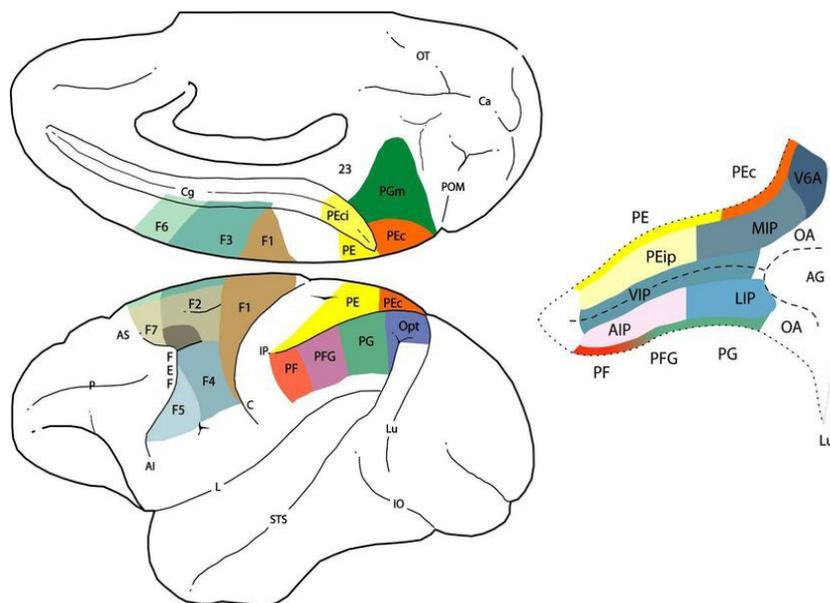


Figura 2: visione mesiale e laterale del cervello della scimmia che rivela la parcellizzazione anatomofunzionale della corteccia motoria e della corteccia parietale posteriore.

Per quanto riguarda *il raggiungimento e l'afferramento* di un oggetto, la registrazione dei movimenti del braccio e della mano ha verificato che i due processi avvengono in parallelo.

### 1.1.2 Il cervello che agisce

Per *afferrare* qualcosa il cervello deve disporre di un meccanismo capace di trasformare l'informazione sensoriale relativa alle proprietà geometriche dell'oggetto in una particolare configurazione delle dita; poi essere in grado di controllare i movimenti della mano e quelli delle dita in modo da eseguire la presa desiderata. Questa funzione richiede il coinvolgimento della *corteccia motoria primaria* (F1), in quanto grazie alle sue connessioni dirette con i motoneuroni del midollo spinale, è l'unica area capace di controllare i movimenti isolati delle dita. F1 però non ha un accesso diretto all'informazione visiva, e i pochi neuroni di quest'area che rispondono a stimoli visivi non possiedono caratteristiche tali da poter trasformare le proprietà geometriche degli oggetti nelle opportune configurazioni motorie. Queste trasformazioni sono indispensabili per atti come l'afferrare, e da qualche tempo si sa che esse dipendono in modo decisivo dall'area F5. La particolarità di quest'area è che la maggior parte dei suoi neuroni non codifica singoli movimenti ma *atti motori*, cioè movimenti coordinati da un fine specifico (Rizzolatti et Gentilucci, 1988). Inoltre è possibile suddividere i neuroni di F5 in classi specifiche, per esempio “*neuroni- afferrare con la mano e con la bocca*”, “*neuroni- afferrare con la mano*”, “*neuroni- tenere*”, “*neuroni- strappare*”. La maggior parte dei neuroni F5, indipendentemente dalla classe di appartenenza, codifica anche il tipo di conformazione che la mano deve adottare per eseguire l'atto in questione. Vi sono quindi neuroni che si attivano quando la scimmia usa la “presa di precisione”, altri che si attivano quando la scimmia afferra gli oggetti con tutte le dita ed altri che “sparano” durante la presa a mano piena, detta anche “presa di forza”. Sin dai primi studi è emerso come una porzione di neuroni di F5 risponda anche a stimoli visivi oltre che durante l'esecuzione di atti motori. Per studiare questo tipo di neuroni *visuo-motori* sono stati utilizzati dei paradigmi sperimentali in grado di separare e dissociare le eventuali risposte visive da quelle motorie. Un esperimento importante è stato condotto da Murata e colleghi (Murata et al., 1997). La registrazione dei neuroni in questo esperimento, ha mostrato che la metà dei neuroni registrati dell'area F5 scaricava soltanto durante i movimenti relativi all'afferramento (*neuroni motori*), mentre l'altra metà rispondeva in maniera significativa alla presentazione dell'oggetto, sia quando questa era seguita da una presa, sia quando ciò non avveniva (*neuroni visuo-motori*), due terzi dei neuroni di entrambi i tipi codificano selettivamente una certa modalità di presa.

L'area F5 ha una stretta connessione con l'area intraparietale anteriore (AIP), i cui neuroni sono attivi durante il movimento della mano. I neuroni di AIP possono essere suddivisi in tre classi distinte: *neuroni a dominanza motoria*, *neuroni visuo-motori* e *neuroni a dominanza visiva*. I neuroni delle prime due classi rivelano proprietà simili ai neuroni motori e visuo-motori dell'area

F5. Le proprietà funzionali di questi neuroni indicano che il circuito AIP-F5 è coinvolto nelle trasformazioni visuo-motorie necessarie per afferrare un oggetto. Inoltre una caratteristica fondamentale dei neuroni a dominanza visiva e dei neuroni visuo-motori di AIP è quella di rispondere selettivamente a specifici stimoli tridimensionali, alcuni rispondono a oggetti sferici, altri a oggetti cubici, altri a oggetti piatti. Il significato funzionale di tali risposte appare chiaro alla luce del concetto di *affordance* introdotta da Gibson (Rizzolatti et Sinigaglia, 2006). Come è noto, per Gibson, la percezione visiva dell'oggetto comporta l'immediata selezione delle proprietà intrinseche che ci consentono di interagire con esso, queste proprietà non sono solo delle proprietà fisiche e geometriche astratte, ma incarnano delle *opportunità pratiche* che l'oggetto "offre" all'organismo che lo percepisce. Naturalmente, molti oggetti contengono più di un'*affordance*, di conseguenza l'osservazione di essi determinerà l'attivazione di più popolazioni neurali in AIP, ciascuna delle quali codifica una determinata *affordance*. Più specificamente, l'area AIP estrae le *affordance* visive dagli oggetti in base al loro aspetto fisico - informazione visiva proveniente da PIP (aree parietali posteriori connesse con AIP)- e al loro significato - informazione proveniente da IT (corteccia temporale inferiore)- e attiva atti motori potenziali (tipi di presa) in F5. In base alle intenzioni dell'agente (corteccia prefrontale), F5 seleziona un atto motorio e comunica la scelta ad AIP potenziando la relativa *affordance* e inibendo le altre.

Un altro circuito F4-VIP (area intraparietale ventrale), che collega l'area F4 della corteccia frontale agranulare e del lobo parietale posteriore, ha la funzione di localizzare gli oggetti entro lo spazio peripersonale. Anche i neuroni di F4 (che presiedono ai movimenti di collo, bocca, braccio) scaricano sia durante gli atti motori, sia in risposta a semplici stimoli sensoriali, di tipo tattile, visivo, o addirittura uditivo.

### **1.1.3 Neuroni canonici e neuroni specchio.**

L'analisi delle proprietà funzionali di F5 mostra come la stragrande maggioranza dei neuroni di quest'area si attivi durante l'esecuzione di specifici atti motori, quali l'afferrare, il tenere o il manipolare, e come una parte di essi risponda *anche* a stimoli visivi. Questi neuroni rivelano una congruenza tra le loro proprietà motorie e la loro selettività visiva, svolgendo un ruolo decisivo nel processo di trasformazione dell'informazione visiva relativa ad un oggetto negli atti motori necessari per interagire con esso. Date le loro caratteristiche questi neuroni sono stati chiamati *neuroni canonici*. Ma all'inizio degli anni Novanta, durante registrazioni compiute in situazioni sperimentali in cui la scimmia poteva agire liberamente, si è visto che i *neuroni canonici* non erano il solo tipo di neuroni ad avere proprietà visuo-motorie. Ci si è accorti che, soprattutto nella

convessità corticale di F5, vi erano neuroni che rispondevano *sia* quando la scimmia effettuava una determinata azione *sia* quando osservava un altro individuo compiere un'azione simile. A tali neuroni è stato dato poi il nome di *neuroni specchio (mirror neurons)*. Dal punto di vista delle *proprietà motorie* i neuroni specchio sono indistinguibili dagli altri neuroni di F5, in quanto anch'essi si attivano selettivamente durante specifici atti motori. Le cose cambiano per quanto riguarda le *proprietà visive*, in quanto a differenza dei neuroni canonici, i neuroni specchio non rispondono alla semplice presentazione di oggetti tridimensionali, né il loro comportamento pare influenzato dalle dimensioni dello stimolo visivo. Piuttosto la loro attivazione è legata all'osservazione da parte della scimmia di determinati atti compiuti dallo sperimentatore (o da un'altra scimmia) che comportano un'interazione effetto-oggetto. A tal proposito occorre però notare che né i movimenti della mano che si limitino a mimare la presa in assenza dell'oggetto né i gesti intransitivi (privi cioè di un oggetto), provocano risposte significative. Inoltre, le scariche dei neuroni specchio risultano in gran parte essere indipendenti dalla distanza e dalla localizzazione spaziale dell'atto osservato.

È stato possibile suddividere i neuroni specchio in classi analoghe a quelle indicate a proposito delle proprietà motorie dei neuroni di F5: abbiamo dunque “neuroni-specchio-afferrare”, “neuroni specchio-tenere”, “neuroni specchio-manipolare”, ma anche “neuroni specchio-collocare” e “neuroni specchio-interagire con le mani”. Quindi gran parte dei neuroni specchio di F5 risponde all'osservazione di *un solo determinato tipo di atto*. Altri neuroni appaiono meno selettivi, scaricando durante l'osservazione di due o, più raramente, di tre atti motori. Il confronto tra le risposte visive e l'attività durante gli atti motori consente di cogliere uno degli aspetti funzionali più importanti dei neuroni specchio: *la congruenza* tra l'atto motorio codificato dal neurone e l'atto motorio osservato che è efficace nell'attivarlo. E tale congruenza può essere in *sensu stretto* o in *sensu lato*. Si parla della prima, quando un neurone mostra un'esatta corrispondenza tra azione osservata e azione eseguita. Si parla del secondo tipo di congruenza quando gli atti codificati dal neurone in termini visivi e motori appaiono chiaramente connessi, pur non essendo identici, e il loro legame può presentare livelli diversi di generalità.

I primi studi sui neuroni specchio si sono concentrati quasi esclusivamente sulla regione dorsale di F5 in cui sono rappresentati i movimenti della mano. Ma abbiamo affermato precedentemente che la regione ventrale di F5 è deputata anche al controllo dei movimenti della bocca. Da uno studio recente infatti è emerso che circa un terzo dei neuroni di quest'area possiede proprietà visuo-motorie tipiche dei neuroni specchio, rispondendo sia all'effettiva esecuzione di atti motori con la bocca, sia all'osservazione di atti analoghi realizzati da altri (Ferrari et al., 2013).

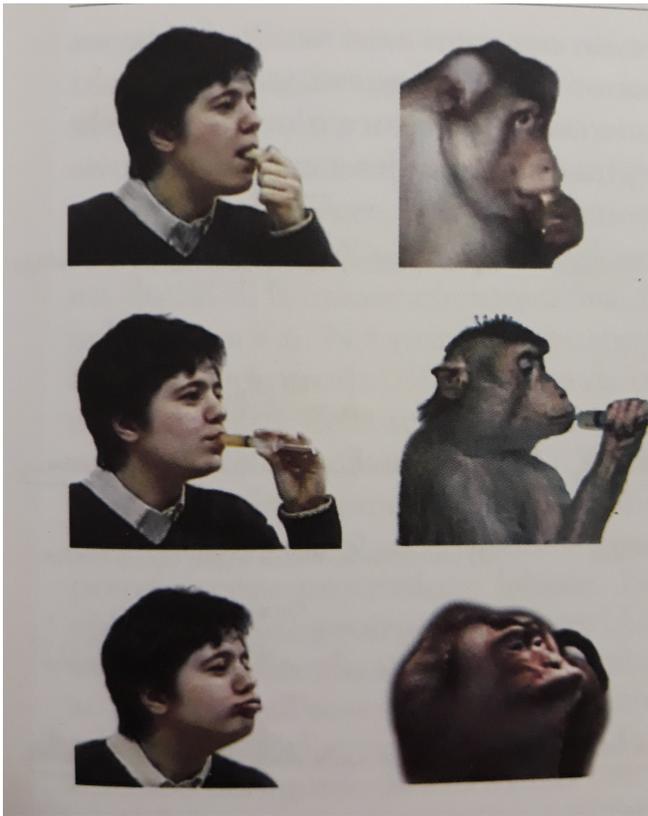


Figura 3

In questa figura (Fig.3), infatti sono illustrate alcune delle azioni compiute dallo sperimentatore e dalla scimmia al fine di controllare la specificità delle risposte motorie e visive dei neuroni registrati nell'animale. La maggior parte (85% circa) dei neuroni specchio rispondeva alla vista di atti come l'afferrare il cibo con la bocca, il masticarlo o il succhiarlo, motivo per cui questi neuroni sono chiamati *neuroni ingestivi*. Per questi neuroni la semplice presentazione di un oggetto o l'esecuzione di movimenti intransitivi non sortiscono alcuna risposta significativa. Inoltre, la maggior parte di essi è selettiva per un determinato tipo di atto, e circa un terzo mostra una stretta congruenza tra azione osservata e azione eseguita. Diverso è invece il comportamento dei neuroni specchio che rispondono all'osservazione di atti compiuti con la bocca ma dotati di funzione comunicativa. I *neuroni comunicativi* rispondono alla vista di atti intransitivi, a differenza degli altri neuroni specchio. Il fatto che l'ingerire e il comunicare rimandino ad un substrato neurale comune appare particolarmente significativo, soprattutto alla luce di alcuni studi di carattere etologico ed evolutivo condotti su primati non umani.

Come si è visto precedentemente, i neuroni canonici di F5 ricevono gran parte dell'informazione visiva dall'area intraparietale anteriore (AIP). Per quanto riguarda i neuroni specchio invece? Da quali regioni corticali traggono i loro input sensoriali?

Più di quindici anni fa David Perret e colleghi (David et al., 1989/1990) hanno mostrato come nella parte *anteriore del solco temporale superiore* (STS) della scimmia vi siano neuroni che rispondono selettivamente all'osservazione di un'ampia gamma di movimenti corporei compiuti da un altro individuo: alcuni si attivano quando l'animale vede un individuo muovere la testa o gli occhi; altri quando lo vede piegare il tronco o camminare; altri, infine, codificano specifiche interazioni mano-oggetto. Le proprietà visive dei neuroni di quest'ultimo gruppo appaiono assai simili a quelle dei neuroni specchio di F5. Entrambe le popolazioni di neuroni codificano, infatti, più o meno gli stessi tipi di atti osservati, con vari livelli di astrazione e non scaricano in occasione di movimenti dello sperimentatore intransitivi o che mimano l'azione transitiva efficace in assenza di un oggetto. Ma vi è una differenza sostanziale: diversamente dai neuroni specchio di F5, i neuroni di STS sono neuroni puramente visivi che non si attivano durante i movimenti compiuti dall'animale. Sono privi, dunque, di quel meccanismo di accoppiamento visuo-motorio che è la caratteristica essenziale dei neuroni specchio. L'area STS è fortemente connessa con il lobo parietale inferiore e con settori del lobo prefrontale. L'informazione visiva relativa alle azioni osservate può raggiungere F5 solo attraverso una o entrambe queste vie. La seconda, però, dovrebbe essere la meno importante: sappiamo, infatti, che le connessioni tra F5 e i settori del lobo prefrontale che ricevono informazioni da STS non sono molto ricche; di contro, F5 ha ricche connessioni con la parte rostrale del lobo parietale inferiore (PF e PFG). Circa il 40% dei neuroni che rispondono a stimoli visivi si attiva durante l'osservazione di atti compiuti con la mano, come l'afferrare, il tenere, il raggiungere; e molti di questi (circa il 70%) possiedono proprietà motorie, rispondendo quando la scimmia esegue azioni con la mano, con la bocca o con entrambe. Da qui il nome di *neuroni specchio parietali*. Al pari dei neuroni specchio di F5, i neuroni specchio parietali non scaricano alla sola vista di un agente, o di un oggetto, e nemmeno quando l'atto viene mimato. I neuroni specchio di F5 e del complesso PF-PFG sono alla base, prima ancora dell'imitazione (come affermava Jeannerod), del riconoscimento e della comprensione del significato degli "eventi motori", ossia degli atti, degli altri. Con il termine "*comprensione*" intendiamo un'immediata capacità di riconoscere negli "eventi motori" osservati un determinato tipo di atto, caratterizzato da una specifica modalità di interazione con gli oggetti, di differenziare tale tipo da altri ed eventualmente di utilizzare una simile informazione per rispondere nel modo più appropriato. In questo caso lo stimolo visivo viene immediatamente codificato a partire dal corrispondente atto motorio, anche in assenza di un'effettiva esecuzione di quest'ultimo; con la sola, ma non marginale, differenza che, nel caso dei neuroni specchio, lo stimolo visivo non è costituito da un oggetto o dai suoi movimenti ma dai movimenti compiuti da un altro individuo e oggettualmente correlati nel modo dell'afferrare, del tenere o del manipolare. Dagli studi di Perrett e colleghi (Jellema et al., 2000, 2002.) emerge come

la codifica visiva delle azioni raggiunga nella regione anteriore di STS livelli di complessità sorprendenti. Per esempio, vi sono neuroni in grado di combinare l'informazione relativa all'osservazione della direzione dello sguardo rivolto verso di esso. Se lo sperimentatore guarda altrove, l'osservazione della sua azione non determina alcuna scarica degna di nota. Tuttavia, basta una simile selettività o, più in generale, la capacità di collegare aspetti visivi differenti dell'azione osservata per parlare di una vera e propria comprensione? Dal punto di vista motorio, il legame tra l'atto di raggiungere qualcosa e la direzione dello sguardo non risulta affatto accidentale: sin dall'infanzia scopriamo che il modo migliore per raggiungere un oggetto è di guardare in direzione di esso. Sicché ogni volta che si osserva qualcuno compiere un atto del genere, il sistema motorio entra, per così dire *in risonanza* consentendo di riconoscere l'aspetto attenzionale dei movimenti osservati e di comprenderne il tipo di azione. Ciò che contraddistingue l'attivazione dei neuroni specchio in quanto neuroni motori durante un'azione, non è soltanto il fatto che essi ne codifichino tipo, modi e tempi di realizzazione, ma che ne controllino l'esecuzione.

L'attivazione dei neuroni specchio riflette il significato dell'azione osservata, e non dipende semplicemente dai suoi aspetti visivi. Questo per esempio è stato osservato da una ricerca di Evelyne Kohler e colleghi (Kohler et al., 2002) che ha consentito di individuare tra i neuroni specchio di F5 un tipo particolare di neuroni bimodali (*neuroni audio-visivi*) che si attivano sia quando la scimmia osserva lo sperimentatore compiere un'azione che produce rumore, sia quando ascolta il rumore prodotto da tale azione, senza però vederla. Dunque gli aspetti visivi dell'azione osservata appaiono rilevanti solo in quanto consentono di comprenderla, ma tale comprensione è possibile anche su altre basi (per esempio, sonore), dunque i neuroni specchio sono in grado di codificare l'azione compiuta dallo sperimentatore pure in assenza di qualunque stimolo visivo. Il possesso da parte di un individuo del significato dei propri atti e la conoscenza motoria che gli deriva dalla convalida delle loro possibili conseguenze appaiono così condizioni necessarie, ma anche sufficienti, per garantirgli una comprensione immediata di quelli degli altri. E ciò vale anche per eventuali concatenazioni di singoli atti in azioni più complesse. Questo aspetto dell'organizzazione motoria è stato recentemente esaminato da Fogassi e colleghi (Fogassi et al., 2005), i quali hanno registrato una serie di neuroni parietali che si attivavano quando la scimmia afferrava un oggetto, studiandone le risposte in un paradigma che contemplava due situazioni differenti: nel primo caso la scimmia afferrava un pezzo di cibo di fronte a lei, per poi portarlo in bocca; nel secondo caso doveva metterlo in un contenitore. I risultati dell'esperimento hanno mostrato che la maggior parte dei neuroni si attivava in maniera diversa a seconda che l'atto motorio successivo all'afferramento consistesse nel portare alla bocca o nel mettere nel contenitore. In un

campione di tre neuroni, due su tre si attivano in maniera chiaramente diversa se l'afferramento è seguito da uno o dall'altro atto motorio, mentre il terzo codifica l'afferramento indipendentemente dall'intenzione con cui è compiuto.

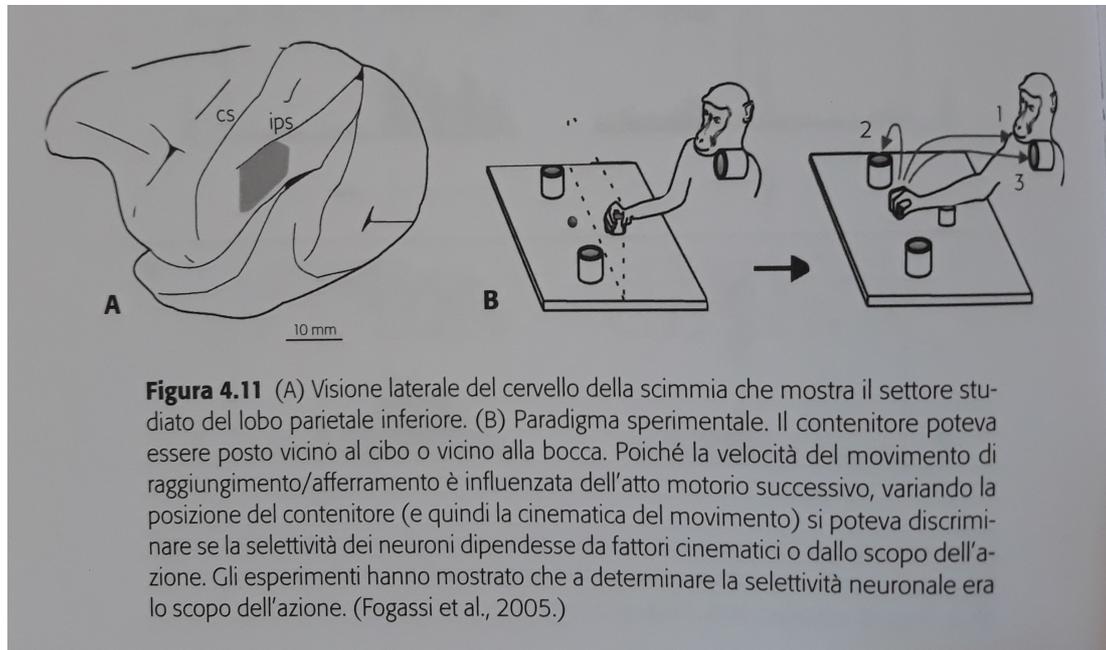


Figura 4

Questo significa che ogni “*neurone-afferrare*” codifica l'afferramento, ma è anche collegato con l'atto motorio successivo, e questo legame facilita la fluida esecuzione dell'azione. Ma la cosa più interessante rilevata in questo studio è che una specificità analoga a quella motoria era riscontrata anche quando la scimmia osservava lo sperimentatore compiere le stesse catene d'atti. Pure in questo caso i neuroni si attivavano in base all'azione successiva all'afferramento. Tutto ciò non fa altro che confermare l'importanza di quella *conoscenza motoria* che consente non solo di riconoscere il significato degli atti osservati quando essi sono compiuti in maniera isolata, ma anche quando entrano a far parte di catene motorie più o meno articolate.

### 1.1.4 I neuroni specchio nell'uomo

La scoperta dei neuroni specchio nella scimmia ha suggerito subito l'idea che un sistema di risonanza simile potesse esser presente anche nell'uomo. Evidenze di questo tipo erano state rintracciate in studi di elettroencefalografia (EEG), condotti negli anni cinquanta del Novecento, sulla reattività dei ritmi cerebrali durante l'osservazione di movimenti; e in studi di magnetoencefalografia (MEG). La prova più convincente che il sistema motorio dell'uomo possieda

proprietà specchio si deve però ad alcuni studi di stimolazione magnetica transcranica (TMS). Fadiga e colleghi (Fadiga et al., 1995) hanno registrato i MEP, indotti dalla stimolazione della corteccia motoria sinistra, in vari muscoli della mano e del braccio destri di individui cui era stato chiesto di osservare uno sperimentatore mentre afferrava degli oggetti con la mano o compiva gesti apparentemente insignificanti, privi di qualsiasi correlato oggettivo. L' incremento dei MEP durante l' osservazione di atti transitivi era coerente con i dati raccolti negli studi sulla scimmia, il loro aumento in occasione dell'osservazione degli atti intransitivi appariva sorprendente, in quanto i neuroni specchio della scimmia non rispondono alla vista di movimenti non finalizzati del braccio. Ma c'è un' altra differenza tra i neuroni specchio della scimmia e quelli dell'uomo: la registrazione dei MEP nei muscoli della mano di soggetti normali che stavano osservando lo sperimentatore compiere i movimenti dell'afferrare ha evidenziato come l'attivazione della corteccia motoria riproduca fedelmente il decorso temporale dei vari movimenti osservati. Però per poter localizzare le aree corticali e i circuiti neurali che risultano coinvolti e di conseguenza per individuare l'architettura complessiva del sistema dei neuroni specchio, bisognava avvalersi delle metodologie di *Brain Imaging*, in particolar modo della PET e della fMRI, che permettono di individuare variazioni metaboliche nelle diverse regioni del cervello, determinate dall'esecuzione e dall'osservazione di specifici atti motori, e di misurarne così il rispettivo grado di attivazione. Studi realizzati con questi metodi (Decety et al., 1994; Rizzolatti et al., 1996; Grafton et al., 1996; Grézes et al., 1998/2001) confermarono quanto emerso nell'analisi dei neuroni specchio della scimmia. Le aree costantemente attive durante *l'osservazione* delle azioni altrui sono la *porzione rostrale del lobo parietale inferiore* e il *settore inferiore del giro precentrale* più quello *posteriore del giro frontale inferiore*. Per quanto rischioso, potremmo affermare che la regione attivata nel lobo parietale inferiore corrisponda all'*area 40 di Brodmann*, la quale rappresenterebbe l'omologo umano dell'area PFG che costituisce parte del sistema dei neuroni specchio nella scimmia. L'area 44 di Brodmann potrebbe essere considerata l'omologo umano dell'area F5 della scimmia (Petrides, Pandya, 1997.) ed essa possiede una rappresentazione, oltre che dei movimenti della bocca, anche della mano. Giovanni Buccino e colleghi nel 2001 hanno condotto un esperimento di fMRI, chiedendo agli studenti di osservare dei videoclip in cui un attore compiva azioni transitive (come mordere una mela, prendere una tazzina da caffè, dare un calcio ad un pallone...) o in cui mimava le stesse. L'osservazione dei movimenti transitivi fatti con la bocca attivava due foci nel *lobo frontale*, uno in corrispondenza della *parte posteriore del giro frontale inferiore* e uno nella *parte inferiore del giro precentrale*, e due foci nel *lobo parietale inferiore*. L'osservazione dei movimenti transitivi eseguiti con la mano determinava un pattern d'attivazione simile, ma l'attivazione della parte inferiore del giro precentrale era posta più dorsalmente, mentre quella rostrale del lobo parietale si

spostava posteriormente. Quanto alle azioni transitive eseguite con il piede, si notava una sola attivazione frontale, più dorsale rispetto alle altre due, e un ulteriore spostamento posteriore dell'attivazione parietale. Dall'esperimento di Buccino e colleghi appare chiaro come il sistema dei neuroni specchio nell'uomo comprenda, oltre all'area di Broca, larghe parti della corteccia premotoria e del lobo parietale inferiore. Esso mostra anche come il sistema dei neuroni specchio non sia limitato ai movimenti della mano, e neppure agli atti transitivi, ma risponda anche agli atti mimati. Il fatto che nell'uomo il sistema dei neuroni specchio possa assolvere una gamma di funzioni più ampia di quella osservata nella scimmia non deve farne dimenticare il *ruolo primario*, quello cioè legato alla *comprensione del significato delle azioni altrui*. Come nella scimmia, così nell'uomo la vista di atti compiuti da altri determina nell'osservatore un immediato coinvolgimento delle aree motorie deputate all'organizzazione e all'esecuzione di quegli atti. E tale coinvolgimento consente di *decifrare il significato degli "eventi motori" osservati, e comprenderli in termini di azioni*. Infine, come nella scimmia, così nell'uomo tale comprensione non investe solo singoli atti, bensì intere catene di atti; e le diverse attivazioni del sistema dei neuroni specchio mostrano come esso sia in grado di codificare il significato che ogni atto osservato viene ad assumere a seconda delle azioni in cui potrà trovarsi immerso. Il sistema dei neuroni specchio è in grado di codificare non solo l'atto osservato, ma anche *l'intenzione* con cui esso è compiuto, e ciò perché probabilmente l'osservatore, nel momento in cui assiste all'esecuzione di un atto motorio da parte di un altro, anticipa possibili atti successivi ai quali quell'atto è concatenato. Inoltre ci sono molti più neuroni che codificano l'afferrare per portare alla bocca rispetto all'afferrare per altro scopo, che sia mettere in un contenitore o per spostare una tazza e metterla in un lavandino (Iacoboni et al., 2005). L'*"atto dell'osservatore"* è un *atto potenziale* causato dall'attivazione dei neuroni specchio in grado di codificare l'informazione sensoriale in termini motori e di rendere così possibile quella "reciprocità" di atti e di intenzioni che è alla base dell'immediato riconoscimento da parte nostra del significato dei gesti degli altri. Il possesso del sistema di neuroni specchio e la selettività delle loro risposte determinano così uno *spazio d'azione condiviso* all'interno del quale ogni atto e ogni catena d'atti, nostri o altrui, appaiono immediatamente iscritti e compresi, senza che ciò richieda alcuna esplicita o deliberata "azione conoscitiva".

### **1.1.5 I meccanismi dell'imitazione e dell'apprendimento**

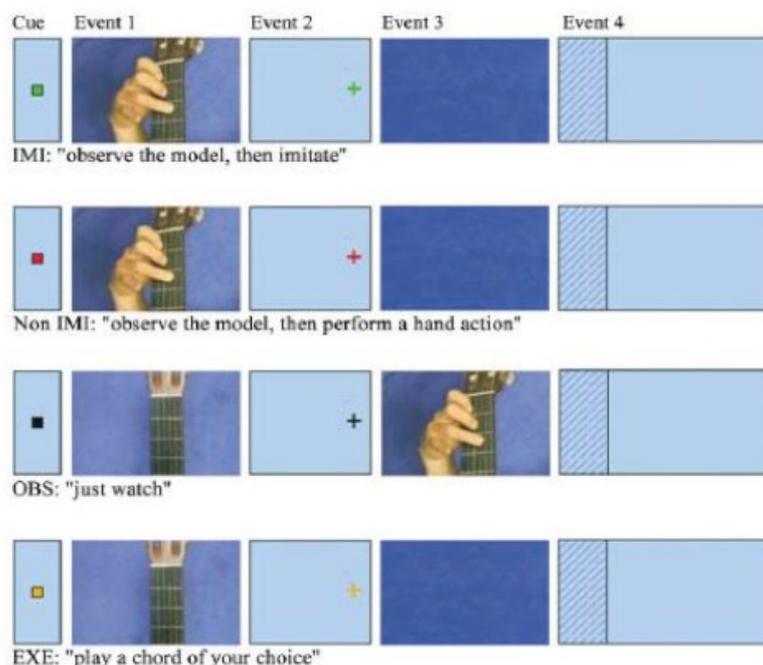
Il circuito formato dalla corteccia premotoria ventrale e dalla corteccia parietale posteriore, assieme agli input visivi provenienti dalla parte posteriore del solco temporale superiore, è la base dell'*imitazione*: dalla ripetizione di movimenti semplici, comune anche alle scimmie, come alzare il

dito indice (Iacoboni et al., 1999), alla riproduzione di pattern motori complessi e organizzati tipica delle forme mature di imitazione umana. L'imitazione motoria è una funzione cognitiva che implica l'osservazione e l'esecuzione dell'azione (Buccino et al., 2006). Le basi neurali e i meccanismi funzionali di tale facoltà sono poco conosciuti. Sin dalla loro scoperta i ricercatori si sono chiesti se i Neuroni Specchio potessero essere alla base dell'*imitazione* (Iacoboni et al., 1999; Koski et al., 2001; Buccino et al., 2004).

Ma cosa s'intende precisamente quando si parla di *imitazione*? Esistono due importanti nozioni di imitazione: la prima, diffusa per lo più tra gli psicologi sperimentali, si riferisce alla capacità di un individuo di replicare un atto, che in qualche modo appartiene al suo patrimonio motorio, dopo averlo visto fare dagli altri; la seconda, propria degli etologi, presuppone che tramite l'osservazione, un individuo apprenda un pattern d'azione nuovo e sia in grado di riprodurlo nei dettagli. Secondo la prima nozione, l'imitazione potrebbe essere basata su un meccanismo che associa direttamente l'azione osservata alla rappresentazione motoria interna di quell'azione ("direct matching hypothesis", Rizzolatti et al., 2001). Particolare rilevanza assumono gli studi di Iacoboni e colleghi (Iacoboni et al., 1999) che confermano l'ipotesi che il Sistema dei Neuroni Specchio sia implicato nell'imitazione di atti già presenti nel vocabolario motorio dell'osservatore, suggerendo una traduzione motoria immediata dell'azione stessa. Lo studio è stato così condotto: sullo schermo di un computer sono stati presentati un punto di fissazione e immagini raffiguranti la mano di una persona che alzava l'indice o il medio; la stessa mano ferma sul cui dito indice o medio compariva una crocetta; uno sfondo grigio su cui appariva una crocetta. I partecipanti, volontari sani, dovevano limitarsi ad osservare gli stimoli (condizione di "osservazione"), oppure, dopo averli osservati, dovevano alzare il dito che avevano visto muoversi (condizione di "imitazione") o che era indicato dalla crocetta. In un'altra situazione l'istruzione era di muovere il dito indice quando la crocetta era a sinistra del punto di fissazione, il dito medio quando la crocetta era a destra. L'attività cerebrale è stata esaminata attraverso la risonanza magnetica funzionale per immagini (fMRI) per misurare in vivo le funzioni cerebrali. La prima condizione di osservazione-esecuzione, cioè quella direttamente imitativa, ha prodotto un segnale cerebrale più intenso rispetto alle altre due condizioni di osservazione-esecuzione. In particolare tale risultato è stato rilevato in tre aree: nella parte posteriore del giro frontale inferiore di sinistra (opercolo frontale sinistro), nella regione parietale anteriore destra e infine nell'opercolo parietale destro. Le prime due aree sono risultate attive anche durante le tre condizioni di sola osservazione. Essendo i partecipanti a conoscenza del compito da eseguire, cioè sapevano se dovevano muovere il dito o se dovevano astenersi dal farlo, i risultati ottenuti hanno permesso di affermare che l'immagine motoria di un movimento è sempre presente

anche durante la sola osservazione. Tale attività di fondo aumenta di intensità quando è presente lo stimolo da imitare. Ciò fa supporre che l'opercolo frontale sinistro (corrispondente all'area di Broca, area 46 di Brodmann) e la regione parietale anteriore destra abbiano un meccanismo del tipo "associazione diretta osservazione-esecuzione". Questo confermerebbe il coinvolgimento del Sistema dei Neuroni Specchio nell'imitazione di atti già presenti nel patrimonio motorio dell'osservatore, codificando l'azione osservata in termini motori e rendendo in tal modo possibile una replica. L'attivazione dell'area parietale anteriore destra durante l'osservazione dell'azione starebbe ad indicare la formazione di una copia cinestetica del movimento da imitare, così da poterlo memorizzare e ripetere. L'area frontale inferiore sinistra si attiverebbe, invece, a seguito dell'osservazione delle azioni, ma con lo scopo di comprenderne il significato. Si può concludere che l'area inferiore frontale sinistra (in cui è localizzata l'area di Broca), codifica lo scopo del movimento senza definire i precisi dettagli della sequenza motoria (per esempio, sollevare il dito); mentre l'attivazione dell'area parietale anteriore destra riflette la codifica di precisi aspetti cinestetici dell'azione da imitare (per esempio, di quanto il dito dovrebbe essere sollevato). Quanto sostenuto fino a questo punto vale, però, per l'imitazione intesa secondo la prima accezione del termine (Rizzolatti & Sinigaglia, 2006). Ma cosa accade quando essa non si riduce alla sola ripetizione di un atto appartenente al repertorio motorio dell'osservatore, bensì richiede l'apprendimento di un pattern d'azione nuovo? Si può ipotizzare, anche in questo caso, un intervento da parte del sistema dei neuroni specchio? L'apprendimento via imitazione risulterebbe dall'integrazione di due processi distinti: il primo dovrebbe consentire all'osservatore di segmentare l'azione da imitare nei singoli elementi che la compongono, ovvero di convertire il flusso continuo dei movimenti visti in una serie di atti appartenenti al suo patrimonio motorio; il secondo dovrebbe permettergli di mettere nella sequenza più idonea gli atti motori così codificati affinché l'azione eseguita rispecchi quella del dimostratore (Byrne & Russon, 1998; Byrne, 2002; Byrne, 2003). Il Sistema dei Neuroni Specchio scarica in risposta ai singoli atti motori elementari che costituiscono l'azione osservata; si presuppone che attraverso tale meccanismo l'azione vista sia suddivisa nelle sue componenti elementari e codificata dal punto di vista motorio. Quando l'azione da imitare corrisponde al singolo atto elementare già presente nel sistema dei neuroni specchio, tale atto può essere immediatamente inviato alle strutture cerebrali preposte al movimento e replicato. In questo tipo di imitazione non si verifica alcun tipo di apprendimento (Iacoboni et al., 1999). Quando l'imitazione richiede l'apprendimento di un nuovo pattern motorio, viene richiesto un ulteriore meccanismo. Si suppone che tale tipo di meccanismo di apprendimento consista nella ricombinazione degli atti motori osservati in un nuovo pattern motorio. La "vera" imitazione quindi, consisterebbe in due passi ben definiti: la codifica dei singoli atti motori elementari di ogni azione

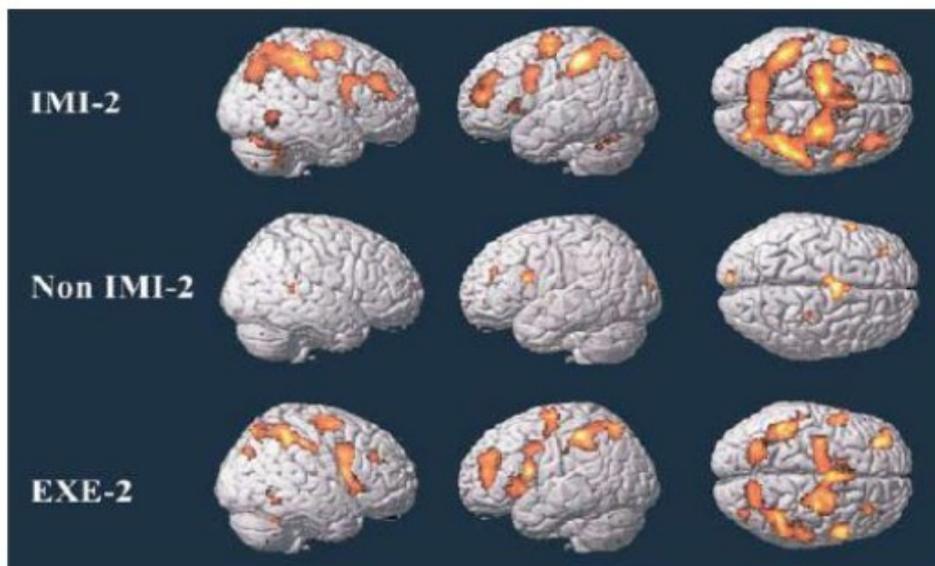
complessa, da parte del Sistema dei Neuroni Specchio, e la ricombinazione di tali atti codificati in un nuovo pattern motorio così da poter replicare l'azione osservata. Buccino e colleghi (Buccino et al., 2004), si sono occupati di definire i substrati neurali alla base dell'apprendimento per imitazione e responsabili della ricombinazione degli atti motori elementari in un nuovo pattern motorio. A tal fine è stato realizzato uno studio, eseguito con la risonanza magnetica funzionale per immagini, in cui sono stati reclutati soggetti sani che non avevano mai prima di allora suonato una chitarra. La condizione fondamentale consisteva nell'osservazione di un video in cui si vedeva la mano di un chitarrista professionista mentre eseguiva alcuni accordi, e nell'imitazione, dopo un breve pausa, degli accordi visti. Inoltre, la sperimentazione prevedeva anche tre condizioni di controllo: la prima era una condizione di non-imitazione, durante la quale i partecipanti, una volta osservato l'accordo eseguito dal maestro, dovevano eseguire un'azione diversa dalla produzione dell'accordo musicale (presa e rilascio del manico, strofinio dei tasti,...); la seconda era una condizione di osservazione per cui i partecipanti dovevano guardare dapprima il manico della chitarra che oscillava e poi l'accordo eseguito dal maestro; la terza era una condizione di esecuzione durante la quale i soggetti potevano provare ad eseguire un accordo a loro piacimento.



*Buccino G et al , Neuron 2004*

L'osservazione degli accordi a scopo imitativo determinava l'attivazione del circuito dei Neuroni Specchio, confermando un suo ruolo nell'apprendimento per imitazione. Infatti, durante tutte le fasi imitative è stata evidenziata una forte attivazione della parte rostrale del lobo parietale inferiore, della corteccia premotoria e della parte opercolare del giro frontale inferiore, strutture che coincidono con il Sistema dei Neuroni Specchio. Lo stesso circuito si attivava, anche se in modo

minore, nelle condizioni di controllo quando i partecipanti dovevano guardare l'accordo eseguito dal maestro oppure, dopo averlo osservato, dovevano muovere le mani sulla chitarra, senza però provare a fare alcun accordo. Inoltre, durante la pausa della condizione imitativa è stata osservata un'attivazione più forte della parte rostrale del lobo parietale inferiore rispetto alla pausa della condizione non imitativa. Questo era dovuto al fatto che, durante la pausa della condizione imitativa, i soggetti dovevano ricordare gli accordi osservati per poi imitarli, mentre nella condizione di non-imitazione potevano scegliere di suonare un accordo liberamente. Il dato più interessante è stato che durante la pausa prima dell'imitazione compariva anche un'intensa ed estesa attivazione di una regione della corteccia frontale corrispondente all'area 46 di Brodmann e di aree della corteccia mesiale anteriore. Ovviamente, durante l'esecuzione del movimento si attivavano le aree motorie indipendentemente dalla natura imitativa o meno del compito. Appare evidente come la trasformazione dell'informazione visiva in un'opportuna risposta motoria avvenga nel Sistema dei Neuroni Specchio. Più precisamente, i Neuroni Mirror localizzati nel lobo parietale inferiore e nel lobo frontale traducono in termini motori gli atti elementari che caratterizzano l'azione osservata (Rizzolatti & Sinigaglia, 2006). Tuttavia, le risposte rilevate durante le pause prima dell'imitazione e dell'esecuzione di accordi a piacere paiono indicare che l'attivazione del Sistema dei Neuroni Specchio avvenga per così dire sotto il controllo di alcune aree della corteccia frontale, in particolare dell'area 46 di Brodmann, e della corteccia mesiale anteriore.



*Buccino G et al, Neuron 2004*

Figura 6: aree corticali attivate durante l'evento pausa in differenti condizioni sperimentali.

Non pochi autori (Fuster & Alexander, 1971; Funahashi et al., 1990) in passato hanno attribuito

all'area 46 funzioni prevalentemente legate alla "memoria di lavoro" – capacità di elaborare/mantenere nel breve termine la memoria di lavoro/le sequenze motorie. Ma i dati del presente esperimento suggeriscono ulteriori funzioni per quest'area: oltre alla costituzione di una memoria di lavoro, l'area 46 sembrerebbe, infatti, responsabile della ricombinazione dei singoli atti motori (preceduta dalla loro rappresentazione motoria nel Sistema dei Neuroni Specchio) e della definizione di un nuovo pattern d'azione, il più possibile corrispondente a quello esemplificato dal dimostratore. Le aree corticali anteriori mesiali, attive solo nelle condizioni di imitazione e prima dell'avvio dell'azione, sembrano invece, essere indice della decisione dell'individuo ad agire, avendo quindi un ruolo di inibizione/facilitazione dell'azione prima della sua esecuzione. Buccino e colleghi (Buccino et al., 2004), con il loro studio, hanno dimostrato il coinvolgimento della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra (DLPFC) (area 46 di Brodmann) principalmente durante la preparazione motoria dell'esecuzione per imitazione. Ad opera di quest'area, singoli elementi motori, già presenti nel Sistema dei Neuroni Specchio, vengono selezionati e combinati in un nuovo pattern motorio. Allo scopo di verificare il ruolo preciso svolto dalla DLPFC, Vogt e colleghi (Vogt S. et al., 2007) hanno realizzato uno studio in cui sono stati reclutati 16 chitarristi e 16 non chitarristi. Ai partecipanti è stata concessa una sessione pratica di 4 accordi il giorno precedente l'indagine diagnostica. Il giorno seguente i soggetti sono stati testati sugli accordi appresi il giorno prima e su accordi presentati ex novo, in quattro condizioni: nella prima situazione (osservazione) i soggetti hanno osservato attentamente un video che mostrava la mano di un chitarrista mentre suonava gli accordi, conosciuti o non, da eseguire; nella seconda (preparazione) è stato mostrato un video che istruiva sugli accordi da riprodurre; nella terza (esecuzione) i partecipanti dovevano imitare gli accordi osservati e infine nella quarta (pausa) i soggetti ritornavano ad assumere una posizione di riposo. Nelle diverse condizioni l'attività cerebrale è stata esaminata con la risonanza magnetica funzionale per immagini. I risultati hanno confermato il ruolo della DLPFC nella selezione e nella combinazione delle rappresentazioni motorie del Sistema dei Neuroni Specchio e hanno mostrato come quest'ultimo sia maggiormente attivo durante l'osservazione di azioni nuove rispetto all'osservazione di quelle già apprese. È stato dimostrato che la DLPFC è attiva non solo durante l'osservazione delle azioni, ma anche durante la preparazione motoria (Vogt et al., 2007). L'area 46 è risultata essere maggiormente attiva durante l'osservazione delle azioni e la preparazione motoria degli accordi sconosciuti, mentre durante l'esecuzione di quelli conosciuti (esercitati durante la fase di training del giorno precedente), l'attivazione di tale area risultava diminuita o assente. La funzione della DLPFC si può interpretare in termini di integrazione delle informazioni sensoriali e motorie e di selezione del comportamento appropriato. Data la chiara compatibilità visuomotoria nei compiti richiesti, l'attivazione dell'area 46 non è stata interpretata

come un meccanismo per la comprensione dell'attività richiesta, ma come un controllo effettuato dai centri superiori delle rappresentazioni elementari durante l'apprendimento di materiale nuovo. Infatti, è stato dimostrato il ruolo indiscusso della corteccia prefrontale nelle operazioni non di routine e la diminuzione della sua attivazione di pari passo con l'apprendimento e il consolidamento dell'azione considerata. I chitarristi esperti hanno mostrato segnali significativamente più deboli rispetto ai non chitarristi nelle regioni prefrontali durante l'imitazione sia degli accordi nuovi sia di quelli esercitati il giorno precedente. L'attivazione della corteccia frontale nei chitarristi è dovuta principalmente al compito di preparazione motoria dell'accordo, perché essi hanno attinto l'accordo da eseguire dal loro vasto repertorio di accordi già presente nel loro sistema dei neuroni specchio e ciò spiega la parziale attivazione dell'area 46. Nei non-chitarristi è stata riscontrata una forte attivazione della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra sia per gli accordi sconosciuti che per quelli appresi durante la sessione di training. Apparentemente tale risultato potrebbe essere in contrasto con gli studi precedenti (Buccino et al., 2004), che hanno dimostrato come solo le azioni già presenti nel repertorio motorio dell'osservatore producano un'attivazione del sistema dei neuroni specchio. Questa ambiguità può essere spiegata riflettendo sugli obiettivi degli studi. Durante l'osservazione non seguita dall'imitazione, l'osservatore tende a far risuonare preferibilmente azioni già contenute nel proprio repertorio motorio. Mentre durante l'osservazione attuata al fine di imitare, le nuove azioni, e non le azioni familiari, inducono un'attivazione più forte nel sistema dei neuroni specchio. Il Sistema dei Neuroni Specchio risulta, quindi, essere coinvolto durante le prime fasi di apprendimento per imitazione. Quando è richiesto un comportamento imitativo, le azioni nuove da osservare vengono scomposte in micro sequenze familiari attraverso la risonanza motoria del Sistema dei Neuroni Specchio (Buccino et al., 2004b). Le combinazioni di tali microsequenze in nuove azioni configurate procedono sotto il controllo supervisore della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra.

## **1.2 AOT- Action Observation Therapy**

Come precedentemente anticipato all'inizio di questo capitolo, recentemente numerosi studi hanno testato l'ipotesi che l'associazione fra trattamento rieducativo standard e training imitativo possa portare a conseguire risultati maggiori rispetto al solo trattamento classico. Ultimamente è stato dimostrato che l'osservazione sistematica di azioni quotidiane seguita dalla loro imitazione (Action Observation Therapy) può essere utile per migliorare le prestazioni motorie in soggetti adulti con esiti di stroke ischemico in fase cronica, in pazienti con Morbo di Parkinson, nelle Paralisi Cerebrali Infantili, nell'ambito delle malattie non neurologiche ed infine nei pazienti che hanno subito un intervento ortopedico. Vi è un urgente bisogno in Neuroriabilitazione di approcci che tengano conto

dello sviluppo delle conoscenze nelle neuroscienze di base e mirino a trasferire idee e fatti dalla neuroscienza di base alla pratica clinica, con l'obiettivo finale di costruire strumenti ben radicati nella neurofisiologia e per fornire una cura a diverse malattie neurologiche (e non neurologiche) (Small, Buccino et al., 2014). Questo è ciò che viene spesso indicato come medicina traslazionale. L'obiettivo prevalente dei terapeuti è insegnare le competenze perse, a volte suggerendo strategie alternative al fine di consentire ai loro pazienti di affrontare le attività quotidiane, la logica è che “se non si può dipingere con le mani, si può provare con la bocca”. (Buccino, 2004). Anche se questi approcci a volte lavorano e aiutano i pazienti al recupero nelle attività quotidiane, la cosa triste è che non mirano a riparare i circuiti neurali sottostanti funzioni specifiche attraverso un “restauro” diretto o indiretto. Il passaggio ad un modello traslazionale in Neuroriabilitazione implica la pianificazione di strumenti di riabilitazione specifici, volti a ripristinare le strutture neurali il cui danno ha causato le funzioni compromesse, o attivando percorsi supplementari o correlati che possono eseguire le funzioni originali. Ultimo, ma non meno importante, gli strumenti di riabilitazione ben radicati nella neurofisiologia consentono di pianificare studi controllati randomizzati e ben progettati con la possibilità di misurare i risultati non solo in termini di benefici funzionali e comportamentali (come avviene attualmente per mezzo di scale funzionali), ma anche in termini di cambiamenti in parametri biologici, che possono essere testati utilizzando le tecniche di imaging cerebrale.

### **1.2.1 L'AOT come strumento riabilitativo. Base neurofisiologica dell'azione di tale trattamento**

Ora è una nozione ben accettata nella neurofisiologia che l'osservazione delle azioni svolte da altri attiva nell'osservatore le stesse strutture neurali responsabili dell'effettiva esecuzione di quelle stesse azioni (Rizzolatti et al., 2008). Così, mentre si osservano altre persone eseguire azioni quotidiane, le strutture neurali coinvolte nell'esecuzione effettiva di tali azioni vengono reclutate nel cervello dell'osservatore come se avesse effettivamente eseguito l'azione osservata. Diversi studi hanno costantemente dimostrato che l'osservazione dell'azione è un modo efficace per apprendere o migliorare le prestazioni di quella specifica abilità motoria. È stato dimostrato che l'osservazione dell'azione facilita l'apprendimento motorio e la costruzione di una traccia della memoria motoria negli adulti normali e nei pazienti affetti da ictus (Stefan K et al. 2005, Celnik P et al., 2008). Inoltre, durante l'esecuzione effettiva e l'osservazione di un semplice movimento (piegamento delle dita della mano destra), un aumento della forza nello svolgimento di questo stesso movimento è stato trovato in entrambe le mani se confrontato con una condizione di controllo (Porro et al., 2007).

I risultati di uno studio recente (Gatti et al., 2013) hanno dimostrato che negli adulti sani l'osservazione dell'azione è migliore dell'immaginazione motoria come strategia per l'apprendimento di un nuovo complesso compito motorio, almeno nella rapida fase precoce dell'apprendimento motorio. Nello stesso filone, è stato dimostrato che l'osservazione dell'azione, ma non l'immaginazione motoria, può impedire la depressione corticomotoria indotta dall'immobilizzazione (Bassolino et al.). Dunque, l'AOT è un nuovo approccio di riabilitazione che sfrutta il meccanismo specchio e il suo potenziale ruolo nell'apprendimento motorio per il recupero motorio.

Finora, l'AOT è stata utilizzata nella riabilitazione di pazienti affetti da ictus ischemico cronico (più di sei mesi dopo l'evento acuto), in pazienti affetti da PD (disturbo di Parkinson), in bambini con paralisi cerebrale, e in pazienti non neurologici come quelli sottoposti a chirurgia ortopedica dell'anca o del ginocchio. In uno studio pilota controllato e randomizzato in pazienti con ictus ischemico cronico (Ertelt D et al., 2007), l'AOT è stata applicata per trattare le funzioni motorie degli arti superiori. Ai pazienti del gruppo di controllo è stato chiesto di osservare video clip relativi a problemi storici, scientifici o geografici, ma senza alcun contenuto specifico motorio. Nei pazienti sottoposti all'AOT, c'è stato un miglioramento significativo delle funzioni motorie nel corso di un trattamento di quattro settimane, rispetto alla fase di pre-trattamento e rispetto al gruppo di controllo. Il miglioramento è durato almeno otto settimane dopo la fine dell'intervento. La risonanza magnetica funzionale (fMRI) durante un'attività motoria indipendente, cioè la manipolazione di oggetti, effettuata prima e dopo la terapia ha mostrato un significativo aumento dell'attività nella corteccia premotoria ventrale bilaterale, nel giro temporale superiore bilaterale, nell'area motoria supplementare e nel giro sovramarginale controlaterale. Sulla base di questi risultati, gli autori hanno concluso che l'osservazione dell'azione ha un impatto positivo sul recupero delle funzioni motorie dopo l'ictus mediante la riattivazione delle aree motorie all'interno del sistema di corrispondenza dell'esecuzione dell'azione e di osservazione dell'azione, il correlato umano del Sistema dei Neuroni Specchio nella scimmia. L'AOT è stata applicata con successo anche come rimedio al blocco della postura in pazienti affetti da PD (Buccino, 2011). Lo studio svolto da Buccino ha valutato come l'AOT potesse migliorare l'autonomia delle attività quotidiane dei pazienti con disturbo di Parkinson con "freezing" della postura. Lo scopo dello studio pilota di Buccino è stato quello di valutare i vantaggi di questo approccio, oltre alle tradizionali riabilitazioni, in pazienti affetti da PD, con l'obiettivo di trattamento quello di far raggiungere ai pazienti un'autonomia nella vita quotidiana. Sono stati valutati 15 pazienti, alcuni facente parte del gruppo sperimentale altri del gruppo di controllo. Entrambi i gruppi avevano eseguito una terapia

convenzionale, solo il gruppo sperimentale anche la terapia di osservazione e azione (AOT), quindi a loro era stato chiesto di osservare ed eseguire successivamente differenti azioni quotidiane presentate nei video. Il gruppo di controllo invece doveva osservare dei video privi di azione motoria. La successiva valutazione funzionale è stata effettuata da un medico ignaro della differenza terapeutica tra i gruppi, che ha utilizzato una scala che misura l'autonomia nella vita quotidiana (scala di valutazione della malattia di Parkinson unificata, UPDRS e misura di indipendenza funzionale, FIM). Entrambi i gruppi sono migliorati dopo il trattamento, ma il guadagno funzionale è stato valutato maggiormente nel gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo sia per quanto riguarda la scala UPDRS che la scala FIM. Questi risultati preliminari suggeriscono che l'AOT può migliorare l'autonomia nelle attività quotidiane nei pazienti con PD, rappresentando uno strumento riabilitativo promettente. Dunque i gangli della base sono fortemente connessi con le regioni mirror e giocano un ruolo nella pianificazione motoria e nell'apprendimento motorio. Tenendo conto di questo, è probabile che l'AOT possa riorganizzare e sostenere il normale ciclo di circuiti che collegano la corteccia motoria con i gangli della base e questi alla corteccia motoria tramite il talamo. In un ulteriore studio controllato randomizzato, l'AOT è stata usata nel trattamento delle funzioni motorie degli arti superiori nei bambini con paralisi cerebrale di età compresa tra 6 e 11 anni (Buccino G, 2012). Un gruppo di bambini ha osservato delle azioni quotidiane appropriate per la loro età, mentre un altro gruppo ha dovuto osservare documentari senza alcun contenuto specifico motorio. La valutazione funzionale con la scala di valutazione di Melbourne delle funzioni motorie degli arti superiori ha mostrato che i bambini sottoposti all'AOT si sono comportati significativamente meglio del gruppo di controllo dopo il trattamento. Questi risultati potenzialmente forniscono informazioni sull'ontogenesi del Sistema dei Neuroni Specchio. Se l'AOT ha attivato le rappresentazioni motorie centrali delle azioni in questi bambini, allora questo suggerisce che il Sistema dei Neuroni Specchio già lavora completamente a questa età. Inoltre, questi risultati sollevano la questione se questo trattamento influisca su una rappresentazione motoria già sviluppata in questi bambini o piuttosto contribuisca allo sviluppo di nuove rappresentazioni motorie delle azioni di vita quotidiana apprese. In un altro studio (Errante et al., 2019) è stata eseguita una Risonanza Magnetica Funzionale su bambini con UCP (paralisi cerebrale unilaterale) e su bambini con sviluppo normale (TD), al fine di indagare i correlati neurali di osservazione delle azioni eseguite da bambini con due differenti livelli di abilità motorie, in particolare un bambino con UCP con un moderato deterioramento dell'arto superiore e un bambino con un arto superiore sano. Questo studio suggerisce per la prima volta che i bambini affetti da UCP mostrano una maggior attivazione del Sistema Specchio durante l'osservazione di azioni transitive svolte da un modello simile al loro repertorio motorio, rispetto all'osservazione di una mano sana.

Quindi l'attivazione dei principali nodi del Sistema dei Neuroni Specchio (corteccia parietale posteriore e corteccia motoria primaria) in UCP dipende dal modello specifico osservato. Al contrario, nei bambini sani, la risposta BOLD in queste stesse regioni durante l'osservazione della mano paretica contro quella sana, era molto simile. Una possibile spiegazione di questo risultato potrebbe essere che per i partecipanti sani il modello patologico potrebbe essere una semplificazione della loro rappresentazione motoria della mano. Le prove attuali suggeriscono l'attuazione di strategie di risoluzione dei problemi dirette all'obiettivo nella riabilitazione dei pazienti affetti da UCP. A questo proposito, l'AOT non richiede un forte sforzo cognitivo per il bambino, perché la sua performance è guidata dall'osservazione di un modello esterno che assume automaticamente, grazie al MNS, la rappresentazione motoria delle azioni analoghe a quelle svolte dal modello osservato. Queste rappresentazioni sono quindi rinforzate dalla successiva riproduzione dell'azione. Il presente studio suggerisce che l'osservazione eseguita per imitazione di un modello, le cui capacità motorie sono più strettamente abbinata a quelle dell'osservatore, potrebbe portare ad un maggior miglioramento motorio.

È interessante notare che l'AOT può migliorare il recupero motorio anche in pazienti non neurologici. In uno studio randomizzato controllato, questo nuovo approccio è stato usato in studi ortopedici su pazienti post-chirurgici per frattura dell'anca o sostituzione dell'anca o del ginocchio (Bellelli et al., 2010); considerando che tutti i partecipanti hanno subito una fisioterapia convenzionale, i pazienti del gruppo sperimentale hanno anche osservato video clip che mostrano azioni quotidiane relative agli arti inferiori e successivamente li hanno imitati. Ai pazienti del gruppo di controllo è stato chiesto di osservare video clip senza contenuto motorio, e poi è stato chiesto di eseguire le stesse azioni dei pazienti del gruppo sperimentale (che avevano svolto l'AOT). I partecipanti sono stati sottoposti a scale funzionali (scale FIM e Tinetti) prima e dopo il trattamento da parte di un medico ignaro dell'esperimento. Prima del trattamento, i gruppi non differivano per le misure cliniche o funzionali. Dopo il trattamento, i pazienti del gruppo AOT hanno ottenuto un punteggio migliore rispetto ai pazienti del gruppo di controllo. Questi risultati suggeriscono che l'AOT è un efficace complemento alla terapia convenzionale nella riabilitazione di pazienti ortopedici post-chirurgici. In termini più generali, i risultati di questo studio suggeriscono un effetto top-down nella neuroriabilitazione, dimostrando che la riorganizzazione delle rappresentazioni motorie a livello centrale, molto probabilmente durante l'AOT, può influire sulle prestazioni, anche quando le strutture per attuare le azioni sono compromesse. Infine, vale la pena sottolineare che l'AOT è stata recentemente testata come strumento nella riabilitazione vocale. Anche se non si parla di uno studio randomizzato controllato, ma un rapporto sperimentale, dati

preliminari dimostrano che l'osservazione e l'esecuzione di azioni migliora il recupero di parole d'azione in pazienti con un deficit selettivo per il recupero dei verbi (Marangolo et al., 2010). In conclusione, i risultati degli studi esaminati finora sostengono l'uso dell'AOT come strumento di riabilitazione in diverse malattie neurologiche e non neurologiche. Tuttavia, va sottolineato che gli studi condotti finora hanno coinvolto solo pochi pazienti. Sono necessari studi su un numero maggiore di pazienti per trarre qualsiasi conclusione definitiva sull'efficacia di questo trattamento. Inoltre, nonostante il fatto che l'AOT possa sembrare un facile approccio e molto semplice da applicare, vale la pena sottolineare che è piuttosto esigente in termini di attenzione da prestare all'obiettivo. I pazienti devono essere collaborativi. Infine, la prova che l'AOT può contribuire efficacemente al ripristino delle strutture neurali il cui danno ha causato la compromissione di varie funzioni o possa contribuire ad un'attivazione supplementare o all'attivazione di percorsi correlati, è ancora scarsa. Gli studi futuri dovrebbero mirare a definire la plasticità neurale dovuta a questo trattamento.

L'AOT riconosce la sua base neurofisiologica nella scoperta dei neuroni specchio in varie regioni della corteccia cerebrale del macaco. Nella fase di osservazione durante l'AOT, ai pazienti è richiesto di osservare attentamente le azioni quotidiane con l'obiettivo di ripristinare le strutture neurali normalmente assunte durante l'esecuzione di tali azioni, come se i pazienti stessi eseguissero tali attività. Le azioni osservate appartengono al repertorio motorio degli osservatori. In un altro studio di fMRI, è stato dimostrato che i ballerini esperti (ballerini classici o ballerini di Capoeira) hanno un'attivazione maggiore del sistema specchio quando osservano un altro ballerino che esegue esattamente lo stesso tipo di danza di cui sono esperti rispetto alla condizione in cui devono guardare un diverso tipo di danza (Calvo-Merino, 2005), confermando così che l'esperienza motoria dell'osservatore può modulare la sua capacità di rispecchiare le azioni altrui. Nella fase di esecuzione dell'AOT, i pazienti sono tenuti ad eseguire l'atto motorio osservato per imitazione. L'imitazione motoria, come abbiamo affermato precedentemente, viene talvolta considerata come un compito cognitivo relativamente poco impegnativo, ma le evidenze suggeriscono sempre più che non è così e che l'imitazione è particolarmente sviluppata negli esseri umani, intrinsecamente legata alle interazioni sociali, alla lingua e alla cultura. L'imitazione del movimento implica intrinsecamente l'osservazione motoria, le immagini motorie e l'effettiva esecuzione dei movimenti.

In conclusione, l'AOT è un nuovo approccio nella neuroriabilitazione ben radicata nella neurofisiologia, rappresentando così un modello valido di medicina traslazionale nel campo della neuroriabilitazione. Finora, è stata applicata nel recupero motorio dei pazienti con malattie neurologiche e non neurologiche. Risultati preliminari sono stati raccolti anche nel recupero vocale.

Maggiori studi randomizzati controllati devono essere pianificati per definire il modo migliore per applicare l'AOT nella pratica clinica, i gruppi di pazienti che possono trarre maggior beneficio da esso, come cambiano i parametri biologici dopo l'AOT e, infine, come combinare questo approccio con altri strumenti ben valutati in neuroriabilitazione.

## Capitolo 2

### Disturbi dello stato di Coscienza (DOC)

Gli ultimi anni sono stati caratterizzati da un rinnovato interesse del mondo medico e scientifico per i Disordini di Coscienza (DOC). I progressi della medicina negli ultimi 50 anni, soprattutto per quanto riguarda la terapia intensiva e le tecniche di rianimazione, hanno portato ad un sensibile incremento di sopravvivenza dopo il danno cerebrale grave che, in numerosi casi, si traduce in disturbi prolungati della coscienza. Questo ha generato un rinnovato interesse per queste problematiche e portato alla necessità di definirne meglio i criteri nosologici. La definizione ed i criteri diagnostici di coma, stato vegetativo (SV), stato di minima coscienza (SMC) ed emersione dallo stato di minima coscienza hanno cominciato ad essere sistematizzati solamente negli ultimi 20 anni. Negli anni '90 i progressi della medicina d'emergenza hanno contribuito ad un aumento dell'accesso delle gravi lesioni cerebrali ai reparti riabilitativi, “costringendo” i riabilitatori a dotarsi di strumenti clinici per cercare di descrivere ed intercettare i cambiamenti delle funzioni neurocognitive. Parallelamente si sono cominciati ad esplorare i meccanismi fisiopatologici dei disturbi di coscienza con le nuove tecniche di neuroimaging disponibili: la risonanza magnetica funzionale (fMRI) che studia le variazioni emodinamiche e la tomografia funzionale ad emissione di positroni (PET) che valuta il metabolismo cerebrale.

#### 2.1 Quale nome dare a questi pazienti?

Dopo un trauma grave o un accidente cerebrovascolare, alcuni pazienti si risvegliano dal coma (cioè, aprono gli occhi) ma rimangono insensibili (cioè, mostrano solo movimenti riflessi senza risposta al comando). Questa sindrome è stata definita *stato vegetativo*. Molti clinici si sentono a disagio quando si riferiscono ai pazienti come “vegetativi”. Anzi, per la maggior parte degli inesperti lo stato vegetativo ha una connotazione peggiore e sembra inappropriato riferirsi a questi pazienti come “vegetali”. Alcuni gruppi politici e religiosi hanno quindi sentito il bisogno di enfatizzare questi diritti dei pazienti come esseri umani. Inoltre, sin dalla sua prima descrizione oltre 35 anni fa, un aumento di studi di neuroimaging funzionale e di potenziali evocati cognitivi (ERP) ha dimostrato che i medici dovrebbero essere cauti nel fare affermazioni forti sulla coscienza in alcuni pazienti che non mostrano risposte comportamentali al comando. Date queste preoccupazioni per quanto riguarda le associazioni negative intrinseche al termine “stato vegetativo”, gli errori diagnostici e il loro potenziale effetto sul trattamento e sulla cura di questi pazienti (che a volte non recuperano i segni comportamentali della coscienza ma spesso recuperano ciò che è stato definito di

recente uno “stato di minima coscienza”) è stato proposto in uno studio recente (Laureys, 2010) di sostituire l’espressione *stato vegetativo*. In questo studio si suggeriva ai medici la possibilità di riferirsi a questa condizione come “*sindrome da insonnia non responsiva*” o UWS. Questa definizione neutrale indica pazienti che mostrano un numero di segni clinici (quindi sindrome) di mancanza di risposta (cioè senza risposta ai comandi) in presenza di veglia (cioè apertura degli occhi).

In Europa, questa sindrome clinica era inizialmente chiamata *sindrome apallica* (Kretschmer, 1940) e *coma vigile* (Calvet, Coll. 1959) ma è attualmente conosciuta in campo medico come *stato vegetativo persistente* (PVS), un termine coniato da Jennet e Plum nel 1972 nel loro lavoro “Pietra Miliare” pubblicato sulla rivista “Lancet”. Dopo dieci anni, Plum e Posner hanno introdotto un cambiamento concettuale suggerendo che il termine potesse esser riferito allo stato vegetativo nella sua forma permanente. Dopo aver condotto una ricerca sui risultati della letteratura mondiale riguardo il PVS, la Multi-Society Task Force (MSTF), ha consigliato di aggiungere il termine *persistente* allo stato vegetativo solo un mese dopo la presenza e la diagnosi di stato vegetativo. Sebbene non fosse esplicito, il report della Task Force ha affermato che il termine *stato vegetativo* potrebbe esser applicato ai pazienti che incontrano criteri diagnostici per il PVS ma che sono a meno di un mese dopo il danno. La MSTF ha introdotto anche il termine di *stato vegetativo permanente* e ha stabilito termini temporali di permanenza in base alla causa del danno (cioè più di un anno per l’eziologia traumatico e tre mesi per l’eziologia non traumatica (per es. anossica)). Questo report è stato approvato dall’American Academy of Neurology (AAN).

La seconda affermazione in merito è stata pubblicata un anno dopo dall’ American Congress of Rehabilitation Medicine (ACRM), in cui si affermava che il PVS non potrebbe esser diagnosticato fino a 12 mesi dopo l’incidente (Giacino, 2004). Dal 2002 il termine “persistente” non è più in uso a livello internazionale, e generalmentesi indica solo da quanto tempo la situazione di stato vegetativo è in atto.

Dunque, sono stati eliminati definitivamente i termini “coma vigile”, in quanto rappresentava un ossimoro, e il termine “sindrome apallica”, visto che prove recenti hanno dimostrato che questi pazienti non sono a-pallici (che significa senza corteccia o pallio), ma mostrano “isole” residue della funzione corticale. Inoltre, l’European Task Force on Disorders of Consciousness al posto dell’aggettivo “non cosciente” preferisce aggiungere l’aggettivo “non rispondente (unresponsive)”(Laureys, 2010). Questo termine riguarda quei pazienti classificati come “stato vegetativo”, da non confondere con lo stato comatoso o con lo stato di minima coscienza (MCS), le cui differenze saranno analizzate nel paragrafo seguente.

## 2.2 Differenze tra morte cerebrale, coma, stato vegetativo e stato di minima coscienza.

In questo paragrafo sarà descritto prima lo stato più grave di “morte cerebrale” per poi passare a quelli meno gravi di “stato vegetativo” e “stato di minima coscienza”.

L'esperienza dell'essere coscienti è un fenomeno propriamente soggettivo, che può essere ricondotto a due maggiori componenti: lo “stato di veglia” (wakefulness) e “l'allerta consapevole” (awareness). Lo stato di veglia e la consapevolezza di sé e dell'ambiente richiedono l'integrità delle funzioni cognitive degli emisferi cerebrali e la conservazione dei meccanismi di vigilanza propria del sistema reticolare, estesa rete di nuclei e fibre di interconnessione che occupa la sostanza grigia centrale del ponte, del mesencefalo e del diencefalo posteriore (Moruzzi, 1994). Il sistema riceve impulsi afferenti da molte vie sensitive somatiche, viscerali, uditive e visive e trasmette questi impulsi ai nuclei intralaminari, paracentrali e talamici. Questi nuclei attivano aree ampiamente distribuite nella corteccia cerebrale. I circuiti di feedback neuronale provvedono a bilanciare ad ogni livello la normale attività neuronale.

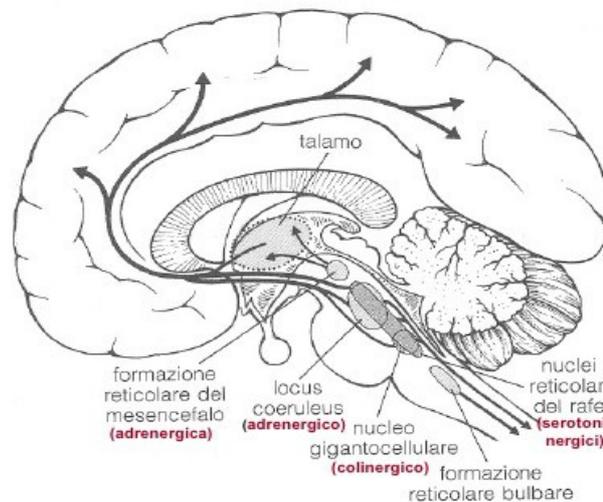


Figura 1: strutture anatomiche coinvolte nella vigilanza e connessione del sistema reticolare con la corteccia.

L'analisi biochimica ha dimostrato a livello del sistema reticolare ascendente attivante la presenza di vie: colinergiche e glutammatergiche ad origine ponto mesencefalica, adrenergiche (locus ceruleus), dopaminergiche e serotoninergiche (troncali) ed istaminergiche (ipotalamiche). Il

normale stato di coscienza dipende dall'integrità della corteccia cerebrale e dalle connessioni sottocorticali. I correlati anatomici della coscienza si identificano con: la sostanza reticolare ascendente, responsabile soprattutto del livello di coscienza e gli emisferi encefalici, responsabili delle funzioni cognitive superiori e sede della coscienza.

Le ricerche neurofisiologiche di Bremer (1961), di Morison e Dempsey (1942) e di Moruzzi e Magoun (1949) hanno dimostrato che una serie ascendente di lesioni del midollo spinale e bulbare, del ponte e del cervelletto non hanno effetti sullo stato di coscienza finché non si raggiunge il mesencefalo ed il diencefalo (talamo). Le sezioni trasverse alte del tronco encefalico inducono sempre stati protratti di mancata risposta agli stimoli, mentre la stimolazione della formazione reticolare di queste zone alte del tronco cerebrale (sistema reticolare attivante superiore) provoca un improvviso risveglio dell'animale sonnolento o dormiente con corrispondenti variazioni dell'elettroencefalogramma.

Gli studi anatomici dimostrano che la RAS riceve collaterali dalle vie sensitive specifiche ed invia fibre a tutta la corteccia cerebrale, che a sua volta invia fibre al sistema reticolare con funzioni di regolazione (feedback). Cosicché sembrerebbe che la stimolazione sensoriale abbia il doppio effetto di trasportare al cervello le informazioni che riguardano il mondo esterno e di fornire anche una parte dell'energia per l'attivazione di quelle parti del sistema nervoso da cui dipende lo stato di coscienza.

## **Morte cerebrale**

Con "*morte cerebrale*" (in lingua inglese "brain death") si descrive una condizione in cui il cervello del paziente, più precisamente il tronco encefalico, smette di svolgere qualsiasi attività: in questo stato la perdita di coscienza è definitiva, così come la risposta a qualsiasi stimolo esterno. Anche se il paziente in stato di morte cerebrale può apparire ai familiari come ancora vivo, come se fosse addormentato o in coma, in realtà è da considerarsi clinicamente morto: l'unico motivo che gli impedisce di morire "fisicamente" è il fatto di essere collegato ai macchinari per la respirazione artificiale. Nella morte cerebrale le cellule cerebrali del paziente sono morte, non mandano segnale elettrico e l'elettroencefalogramma risulta piatto, ciò significa che – allo stato attuale delle conoscenze scientifiche – il paziente non ha alcuna coscienza di quello che accade intorno a lui. Nella morte cerebrale il paziente perde in modo irreversibile la capacità di respirare e tutte le funzioni cerebrali, quindi non ha controllo delle funzioni vegetative (temperatura corporea, pressione arteriosa, diuresi). Il paziente è immobile, non risponde ad alcuno stimolo, neanche a

quelli molto dolorosi. Il cuore del paziente batte regolarmente, ma la respirazione è possibile solo grazie alla respirazione meccanica. I test principali svolti dagli specialisti hanno l'obiettivo di valutare i riflessi del tronco encefalico, sono: l'illuminazione degli occhi alla ricerca del riflesso pupillare, cioè della contrazione (miosi) della pupilla alla luce (in caso di morte cerebrale, non vi è riflesso e la pupilla rimane in midriasi, cioè dilatata); stimolazione del riflesso corneale, toccando l'occhio con una garza (in caso di morte cerebrale, non vi è riflesso); compressione di fronte, naso, sterno o altre zone del corpo per stimolare una reazione al dolore (in caso di morte cerebrale, non vi è reazione); inserimento di acqua fredda nell'orecchio per stimolare il movimento riflesso degli occhi (in caso di morte cerebrale, non vi è riflesso); movimento rapido della testa del paziente a destra e sinistra: in caso di morte cerebrale gli occhi del paziente rimangono fissi nella direzione del capo ("occhi di bambola"); inserimento di un tubicino di plastica nella trachea per provocare il riflesso faringeo (tosse e/o vomito), in caso di morte cerebrale, non vi è riflesso; interruzione temporanea breve della respirazione artificiale, per osservare se il paziente riprende a respirare autonomamente (in caso di morte cerebrale, non vi è ripresa della respirazione autonoma).

## **Coma**

Con il termine "*coma*" (anche chiamato "stato comatoso") in medicina si indica un profondo stato di incoscienza che non risponde né cessa con stimoli tattili, uditivi o dolorosi, in cui il paziente – chiamato dunque "soggetto comatoso" – non può essere risvegliato, ha gli occhi chiusi, non compie azioni volontarie ed ha perso il ciclo sonno/veglia. Il coma viene trattato inizialmente nei reparti di terapia intensiva, successivamente, se e quando le condizioni del soggetto si sono stabilizzate in uno stato vegetativo o in uno stato di minima coscienza, il paziente viene spostato in corsia e, se la condizione si prolunga, ai domiciliari o in strutture RSA. La parola "coma" deriva dal termine greco "koma" (κῶμα), che significa "sonno profondo". Un coma può essere provocato da svariate patologie che interessano, direttamente o indirettamente, il tessuto cerebrale. Qualsiasi condizione: trauma, malattia cerebrale o sistemica capace di danneggiare il sistema nervoso centrale, può potenzialmente causare un coma. È necessario ricordare che nell'encefalo umano sono due le componenti nervose il cui corretto funzionamento è fondamentale per mantenere lo stato di coscienza: la corteccia cerebrale e la formazione reticolare ascendente (anche chiamata "sistema di attivazione reticolare" o RAS) situata nel tronco encefalico e specializzata nel controllo dello stato di veglia e del ritmo circadiano. Le cause più diffuse di danno nervoso che può condurre a coma, sono: danni e malattie del sistema nervoso centrale: ictus cerebrale, traumi cranici, ipossia cerebrale, ipertensione endocranica, tumore cerebrale, meningite, emorragia cerebrale, rottura di

aneurisma cerebrale, encefalite; intossicazioni: stupefacenti, overdose, alcool, tossine, monossido di carbonio, farmaci; alterazioni del metabolismo: ipoglicemia, iperglicemia, chetoacidosi, ipercapnia, uremia; altra cause: arresto cardiaco, insufficienza cardiaca, infarto del miocardio, congelamento, cirrosi epatica grave, alcolismo, demenza vascolare, diabete, embolia, epatite fulminante, annegamento, febbre emorragica di Marburg, febbre gialla, insulinoma, insufficienza renale, ipertermia maligna, malaria, pre-eclampsia, schistosomiasi, sepsi, sindrome da decompressione, sindrome di Reye, toxoplasmosi. Anche una lesione focale emisferica unilaterale può alterare la coscienza, se l'emisfero controlaterale è già compromesso, tuttavia ciò accade più raramente. Il coma è una condizione transitoria che può progredire verso la morte encefalica oppure perdurare per un tempo limitato (giorni o settimane) e termina nel momento in cui il paziente riapre gli occhi spontaneamente o a seguito di stimoli esogeni. Se la riapertura degli occhi è sufficiente per stabilire la fine del coma, non lo è tuttavia per definire lo stato clinico che ad esso segue. È infatti necessario individuare se, oltre alla ricomparsa della vigilanza, è presente una condizione di parziale o completa coscienza (awareness).

### **Stato Vegetativo e Stato di Minima Coscienza**

Lo *stato vegetativo* (VS) spesso è un'evoluzione positiva dello stato comatoso, in cui il paziente recupera totalmente lo stato di veglia. Con questo termine vengono descritti quei pazienti che non presentano segnali comportamentali di consapevolezza ambientale e di se stessi, ma sono svegli e hanno una sufficiente conservazione delle funzioni automatiche come la respirazione, il battito cardiaco, la regolazione della temperatura, tanto da riuscire a sopravvivere quando la sopravvivenza è fornita da un'adeguata assistenza di supporto. Dunque, in opposizione al coma questi pazienti non richiedono supporto vitale artificiale in quanto il diencefalo e le strutture del tronco cerebrale sono sufficientemente risparmiate per sostenere queste funzioni. Il VS viene definito "persistente" se dura per più di un mese, mentre comincia ad essere definito "permanente" dopo un anno, se l'eziologia è traumatica, o dopo tre mesi, se l'eziologia non è traumatica. I pazienti in VS presentano una vigilanza alternata evidente dall'apertura degli occhi o dalla presenza di un ciclo sonno-veglia nell'EEG, ma non riescono a produrre alcun comportamento intenzionale o volontario in risposta a stimoli uditivi, visivi, nocicettivi o tattili e non presentano alcun segno di comprensione o espressione linguistica. Ci sono risposte psicologiche generalizzate al dolore, e movimenti degli occhi che potrebbero esser mal interpretati come ricerca visiva volontaria, se non viene condotto un esame accurato. Il substrato neuropatologico nello stato vegetativo varia secondo la causa del danno, i profili neuropatologici includono diffuse necrosi corticali laminari (danno

ipossico ischemico), coinvolgimento bilaterale dei nuclei talamici paramediani (deficit cerebrovascolare) e danno assonale diffuso (trauma cerebrale). Secondo un documento stipulato dal Ministero della Salute Italiano il 15 Ottobre 2008, benché non sia possibile parlare in assoluto di irreversibilità della condizione, quando la persona in VS raggiunge la stabilità clinica ed entra in una fase di cronicità, essa deve esser considerata *persona con gravissima disabilità*. Al pari degli altri individui con gravissime patologie croniche questa persona può esser preferibilmente curata a domicilio o, quando ciò risulta impossibile, può esser trasferita in strutture a carattere non prettamente sanitario. Naturalmente questo passaggio risulta essere delicato e necessita di particolari strumenti sanitari e sociali di supporto alla persona. Per rifinire i risultati predittivi riguardanti lo stato vegetativo l'MSTF ha calcolato delle probabilità medie per il recupero di coscienza e il grado di disabilità in accordo con i criteri della Gaslow Outcome Scale (GOS). La probabilità di recupero della coscienza è circa del 35% per i pazienti che rimangono in stato vegetativo post traumatico a 3 mesi dall'infortunio. Tra questo gruppo, circa il 20% rimane con grave disabilità a un anno mentre il rimanente 15% raggiunge risultati da moderati a buoni. Tra quelli che non riescono a recuperare coscienza entro i 3 mesi, il 35% muore e l'altro 30% rimane in stato vegetativo ad un anno dopo l'infortunio. Di quelli ancora in stato vegetativo a 6 mesi, il 30% muore, il 50% rimane in stato vegetativo, il 15% recupera la coscienza dai 12 mesi in poi. Le probabilità sui risultati differiscono significativamente per i pazienti in stato vegetativo non traumatico (non dovuto al trauma), rispetto a quelli traumatici. A 3 mesi, la probabilità di un seguente recupero di coscienza nel gruppo non traumatico scende a meno del 10%, tra quei pazienti che non recuperano la coscienza dai 3 mesi, circa la metà morirà durante i seguenti 9 mesi, e l'altra metà rimarrà in stato vegetativo. L' MSTF non ha trovato casi di recupero dopo 6 mesi nel gruppo non traumatico. Il tasso di mortalità scende sotto il 30% dopo i 6 mesi, però più del 70% dei sopravvissuti rimarrà in stato vegetativo. Informati da questo report dell'MSTF, l' American Academy of Neurology (AAN) ha pubblicato una linea guida nel 1995 che stabiliva parametri per determinare quando uno stato vegetativo potrebbe esser considerato permanente.

<i>Etiology</i>	<i>Temporal Criterion</i>
Traumatic brain injury	After 12 months
Non-traumatic brain injury	After 3 months
Congenital malformations	After 3 to 6 months
Metabolic disease	After 1 to 3 months
Degenerative disease	After 1 to 3 months
Anencephaly	At birth

Figura 2: parametri per stabilire quando lo stato vegetativo può rimanere permanente.

È importante ricordare che questi parametri sono basati su probabilità e non su valori assoluti. Anche se raro, il recupero di coscienza è stato segnalato dopo i criteri di permanenza che sono stati incontrati. Un secondo avvertimento che dovrebbe essere considerato quando si utilizzano i cut-off per i criteri di permanenza è la dimensione del gruppo di pazienti da cui questi criteri sono stati segnati. Sebbene l'MSTF ha raccolto i dati sulla prognosi in circa 600 pazienti, c'erano solo 53 pazienti per i quali erano disponibili dati di follow-up oltre 12 mesi dopo l'infortunio. Un terzo problema è correlato all'età degli studi fatti dall'MSTF. I dati erano stati raccolti da studi completati più di 20 anni prima del 2004 (data di pubblicazione dell'articolo) (Giacino, 2004).

In vista delle idee proposte da AAN e ACRM e in aggiunta alle discussioni sui criteri di prognosi e diagnosi dello stato vegetativo, l'Aspen Neurobehavioral Conference introduce un altro termine: *stato di livello minimo di coscienza* (MCS). L'ACRM aveva proposto inizialmente il termine "minimo stato di risposta", questo termine è stato poi disapprovato dall'Aspen group. Per quanto riguarda lo *stato di minima coscienza* (MCS), chiamato anche *mutismo acinetico*, possiamo affermare si tratti di una condizione clinica caratterizzata da una grave compromissione della coscienza, nella quale, tuttavia, possono essere individuati comportamenti finalizzati, volontari, inconsistenti ma riproducibili, a volte mantenuti sufficientemente a lungo, non configurandosi così come comportamenti riflessi. Lo stato di minima coscienza può presentarsi dopo un coma o può rappresentare l'evoluzione di un precedente stato vegetativo; relativamente alla durata l'MCS può essere presente per un breve periodo o può perdurare per un tempo più o meno protratto o indefinito fino alla morte del paziente. L'MCS potrebbe anche risultare da disordini del sistema nervoso congenito o degenerativo. L'Aspen, così come altri gruppi di esperti, negli Stati Uniti e in Europa ha distinto il gruppo di pazienti con stato minimo di coscienza dai pazienti in stato vegetativo. Dalla loro inconsistente capacità di eseguire comportamenti cognitivi limitati ma chiaramente distinguibili (Giacino, 2004).

Una descrizione dei fattori clinici e degli aspetti di prognosi dell'MCS è stato pubblicato da Giacino et al. nel 2002. Per fare diagnosi di MCS deve essere dimostrata su una base riproducibile o sostenuta uno o più dei seguenti comportamenti: inseguimento di semplici comandi; risposta gestuale o verbale sì/no (indipendentemente dalla precisione); verbalizzazione comprensibile; comportamento intenzionale, compresi i movimenti o i comportamenti affettivi che si verificano in relazione contingente a stimoli ambientali rilevanti e non sono dovuti ad un'attività riflessa. Alcuni esempi di qualifiche mirate al comportamento includono: appropriato sorriso o pianto in risposta al contenuto linguistico o visivo emotivi ma non ad argomenti neutri o stimoli neutri; vocalizzazioni o gesti che si verificano in risposta diretta al contenuto linguistico delle domande; raggiungimento

degli oggetti che dimostrano una chiara relazione tra posizione dell'oggetto e direzione di ricezione, toccando o tenendo oggetti in un modo che si adatta alla dimensione e la forma dell'oggetto; movimento oculare di inseguimento o fissazione sostenuta che si verifica in risposta diretta a stimoli in movimento o salienti. Sebbene non sia raro per gli individui con MCS dimostrare più di uno di questi criteri, in alcuni pazienti l'evidenza è limitata ad uno solo dei comportamenti che è indicativo di coscienza. Giudizi clinici riguardanti il livello di coscienza di un paziente dipendono dalle inferenze tratte dal comportamento osservato. Quindi, deficit sensoriali, disfunzione motoria, o la diminuzione della pulsione possono causare una sottostima di capacità cognitiva. Il recupero da MCS a stato di coscienza superiore si verifica lungo un continuum in cui il confine più alto è necessariamente arbitrario. I criteri di diagnosi per l'emersione dall'MCS sono basati su ampie classi di comportamenti utili dal punto di vista funzionale che sono tipicamente osservati nei pazienti che guariscono. Dunque, la ripresa è caratterizzata dalla presenza di una o più di questi comportamenti: comunicazione interattiva funzionale (che potrebbe verificarsi con verbalizzazione, scrittura, segnali si/no, uso di dispositivi di comunicazione artificiali). Per esempio, saper rispondere a delle domande con sì o no, del tipo “sei seduto?” oppure “sto indicando il soffitto?”; uso funzionale di differenti oggetti (uso generalmente appropriato di almeno due oggetti diversi). Per esempio, sapersi pettinare i capelli oppure porre una matita su un foglio di carta (Giacino, 2002). Quindi per valutare correttamente la presenza o l'assenza di consapevolezza è necessario: somministrare stimoli adeguati; valutare sempre la presenza di fattori interferenti, quali il contemporaneo uso di sedativi o farmaci antiepilettici; valutare attentamente se a seguito di un comando verbale la risposta non sia riflessa; fare attenzione che le richieste non superino le capacità e le possibilità del paziente; analizzare bene il range di risposte; effettuare la valutazione del paziente in un ambiente privo di distrazioni; effettuare valutazioni ripetute e durevoli con osservazioni sistematiche e misure strategiche rilevanti; prendere in considerazione i componenti della famiglia, i caregiver e tutto lo staff professionale dedicato all'assistenza per meglio definire le procedure di valutazione.

I pazienti DOC non vanno confusi con i pazienti con *sindrome locked-in*, o *sindrome dell'uomo incarcerato*, una condizione clinica in cui il paziente è vigile e cosciente, ma presenta gravi deficit delle funzioni motorie tali talora da rendere difficoltoso il riscontro degli eventuali segni di coscienza.

### **2.3 Scale di valutazione per i DOC**

Per quanto concerne le scale cliniche di valutazione, Inzaghi, Sozzi e collaboratori (2012) le suddividono in 4 gruppi sulla base delle loro caratteristiche. Al primo gruppo appartengono le scale

descrittive, facili e rapide da somministrare e caratterizzate da criteri tassonomici da applicare all'osservazione clinica del paziente; tali scale si dimostrano tuttavia poco sensibili ai cambiamenti minimi dello stato di coscienza e non sono in grado di evidenziare le sottili modificazioni del quadro nel passaggio tra i vari stati di coscienza alterata a causa di un'eccessiva ampiezza delle categorie di punteggio. Tra queste le più utilizzate in Italia sono: la Glasgow Coma Scale (GCS) (Teasdale & Jennet, 1974; Jennet & Teasdale, 1981), la Levels of Cognitive Functioning Scale (LCFS) (Hagen et al, 1972; Hagen 1997), la Disability Rating Scale (DRS) (Rappaport, et al., 1982). Per quanto riguarda la Glasgow Coma Scale (GCS), essa fornisce, in brevi tempi, indici del livello di vigilanza del soggetto su tre livelli di osservazione che sono l'*apertura degli occhi*, la *risposta motoria* e il *comportamento verbale*. Il punteggio massimo assegnabile con questa scala per indicare la condizione di VS è 10.

Attraverso la Levels of Cognitive Functioning Scale (LCFS) è possibile effettuare una buona descrizione durante il monitoraggio del paziente, sebbene presenti ridotta sensibilità nella variazione dei cambiamenti.

Attraverso la Disability Rating Scale (DRS) è possibile valutare la presenza di disabilità su una scala di punteggi da 0 (nessuna disabilità) a 29 (stato vegetativo grave) suddivisa per 4 categorie di cui vigilanza e responsività, abilità cognitive per la cura di sé, dipendenza dagli altri e partecipazione sociale.

Al secondo gruppo appartengono quelle scale che implicano la somministrazione di stimolazioni e l'analisi delle risposte, che tuttavia non consentono di diagnosticare il passaggio da SV a MCS e da MCS a stato di coscienza: Coma/Near Coma Scale (C/NC Scale) (Rappaport et al, 1992); Western Neuro-Sensory Stimulation Profile (WNSSP) (Ansell & Keenan, 1989); Lowenstein Communication Scale for the Minimally Responsive Patient (LCS) (Borer-Alafi et. Al, 2002); Disorders of Consciousness Scale (DOCS) (Pape et al., 2005a; 2005b); Sensory Modality Assessment and Rehabilitation Technique (SMART) (Gill-Thwaites, 1997).

In particolare, la Coma/Near Coma Scale (C/NC Scale) valuta in tempi brevi e con minimo impegno del paziente, le risposte a stimolazioni riguardanti diverse modalità sensoriali (verbali, uditive, visive, tattili, nocicettive, olfattive). Nonostante rappresenti un buono strumento per il monitoraggio, non risulta adeguata in presenza di deficit cognitivi 'focali' e/o motori. La condizione di SV corrisponde ai livelli 2, 3 e 4, mentre i criteri diagnostici per lo MCS coincidono con il livello 1 della scala.

Del Terzo gruppo fa parte l'unica scala che tiene conto delle raccomandazioni dell'Aspen

Workgroup, ossia la scala Coma Recovery Scale – Revised (Giacino et al., 2004, versione italiana Lombardi et al., 2007), di cui si parlerà in maniera più approfondita nel prossimo capitolo.

Al quarto gruppo appartiene l'unica scala reperita, Preliminary Neuropsychological Battery – PNB (Cossa et al. 1999), somministrabile ai pazienti già responsivi ma che per la loro gravità ancora non sono valutabili con test psicometrici strutturati.

## **2.4 Disordini di coscienza: terapia basata sull'approccio della neurostimolazione**

Schiff et al. (2007) hanno recentemente reinquadrato il DOC come una sindrome di disconnessione in cui, che sia funzionale o strutturale, una rottura a livello del mesocircuito cortico-striato pallido-talamocorticale, danneggia il riemergere della reattività cosciente, un'opinione questa supportata da numerose ricerche recenti. Una sovraregolazione farmacologica di neurostimolatori a livello comportamentale, in certi circuiti (striato, corteccia e talamo) e una sottoregolazione in altri circuiti (globo pallido), potrebbe portare ad un recupero delle funzioni a livelli del circuito e poi a livello dell'espressione comportamentale. I programmi di stimolazione sensoriale sono molto utilizzati nella neuroriabilitazione dopo un grave danno cerebrale dovuto ad un trauma, questi programmi sono basati sull'idea che questo possa favorire la plasticità neurale e in tal modo il recupero. Nei modelli animali la stimolazione sensoriale ha avuto importanti manifestazioni cellulari, e hanno avuto effetti positivi da un punto di vista biologico e comportamentale soprattutto dopo il trauma. Nell'uomo, alcuni studi hanno investigato l'impatto dei programmi di stimolazione sensoriale sul recupero dei pazienti DOC, la maggior parte, tuttavia, sono singoli casi descrittivi o progetti non controllati. Recentemente era stato fatto un trattamento per valutare l'efficacia e i correlati biologici nell'esercitare i sensi cognitivi familiari in un paziente con TBI (traumatic brain injury) per esempio facendo ascoltare al paziente storie narrate da voci familiari (Sullivan, Guernon, Blabas, et al. 2017). Una somministrazione di stimoli sensoriali per 40 minuti ogni sei settimane aveva incrementato le risposte comportamentali in 3 su 4 valutazioni ogni due settimane confrontate con la baseline. Nel successivo periodo di simulazione di 6 settimane, solo due delle quattro valutazioni bisettimanali sono rimaste sopra la baseline. Anche se piccoli, gli effetti erano sopra la soglia, per il minimo cambiamento rilevabile per la scala DOCS-25. Nei pazienti TBI viene usata anche la musicoterapia, un numero di studi suggerisce che la musica può aumentare la risposta eccitatoria e l'attenzione nei pazienti DOC, comparata con il rumore di fondo, o con musica poco piacevole, o stimoli uditivi non musicali (Castro, Tillmann, Luaute, et al. 2015; Perrin, Castro, Tillmann, Luaute, 2015.). La potenza della neurostimolazione come trattamento di rimedio dopo il TBI ha ricevuto maggior attenzione negli ultimi 10 anni. È stato svolto uno studio su 21 pazienti, che hanno

riportato un notevole recupero comportamentale, dopo la stimolazione cerebrale profonda talamica (DBS). Nel contesto dei pazienti DOC la regione da eccitare o inibire è solitamente il talamo, il quale ogni volta che viene regolato, dovrebbe portare ad un restauro funzionale dell'attività del circuito mesiale e quindi ad un aumento della risposta comportamentale. Sono state valutate anche forme alternative di neurostimolazione, approcci particolarmente non invasivi, che includono per esempio la stimolazione magnetica transcranica (TMS) e la stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS). La TMS sulla corteccia motoria primaria è stata applicata a un paziente MCS 5 anni dopo il trauma. I cambiamenti comportamentali, come la risposta al comando, raggiungere l'oggetto, manipolarlo, sono stati osservati dopo la TMS ma non dopo il placebo (Piccione et al., 2011); inoltre, è stato mostrato in un recente studio, che il singolo impulso con la TMS può esercitare effetti molto differenti sulle oscillazioni cerebrali in pazienti DOC, messi a confronto con soggetti sani (Formaggio et al. 2016), forse in funzione dell'integrità dei circuiti talamo corticali, che potrebbero spiegare questi risultati eccitanti della combinazione TMS-EEG nel rilevare i livelli di coscienza.

La tDCS rappresenta un tipo di stimolazione tollerata, un trattamento economico e facile da usare che può esser facilmente implementato in riabilitazione, tuttavia i meccanismi fisiologici su cui si basa non sono chiari. Essa induce cambiamenti di potenziali di membrana, modula l'efficacia dei recettori N-Metil-D-Aspartato e modifica i canali ionici, grazie alla crescita o decrescita della soglia dei potenziali d'azione utilizzando una corrente diretta debole tra due elettrodi. Thibaut et al. (2014) hanno dimostrato recentemente l'efficacia della tDCS in 55 pazienti DOC (incluso VS e MCS). In questo studio una sessione di tDCS e una di finta stimolazione (controllo) erano somministrate a livello della corteccia prefrontale dorsolaterale. Era stato osservato un significativo incremento comportamentale dopo la tDCS, così come nel gruppo di controllo, nei pazienti MCS ma non nei pazienti VS. Un anno dopo la stimolazione la mancanza di differenza tra chi aveva dato una risposta positiva e chi no, suggerisce che l'impatto del singolo tDCS può esser considerato effettivo, ma comunque transitorio (Thibaut, Bruno, Ledoux, et al. 2014). In uno studio di follow-up, l'effetto di stimolazioni multiple di tDCS era stato valutato in un gruppo di 16 pazienti MCS. Qui sono stati osservati miglioramenti significativi, messi a confronto con il gruppo di controllo. È importante sottolineare che l'effetto è stato osservato in maniera continuativa per almeno una settimana (Thibaut, Wannez, Donneau, et al. 2017); Thibaut e colleghi hanno mostrato che miglioramenti di coscienza dopo tDCS sono correlati all'integrità della materia grigia o all'attività metabolica residua nel talamo, nella corteccia prefrontale mediale, e nel precuneo, che è consistente con il ruolo critico della rete cortico-talamo-corticale nel recupero dopo un grave trauma. Una tDCS oscillatoria (al

cervelletto) influenza temporaneamente, solo nei pazienti MCS, la banda theta e gamma, in parallelo alla prestazione comportamentale (Schnakers and Monti, 2017).

## **2.5 L'importanza delle metodiche strumentali nello studio dei pazienti con DOC**

Quasi tutti i fenomeni biologici non si manifestano come tutto/nulla, ma secondo spettri variabili e fluttuanti, e quindi occorre munirsi di markers oggettivi di supporto e di convalida dell'osservazione diretta. Dunque, se l'osservazione clinica rimane l'elemento fondamentale della valutazione diagnostica e prognostica, alcune metodiche strumentali possono tuttavia aiutare la comprensione dei meccanismi fisiopatologici che determinano lo stato di non responsività, aiutare a differenziare il coma e lo SV da condizioni cliniche apparentemente simili, ma differenti (ad es. la sindrome *locked-in*) e, potenzialmente, integrarne la valutazione prognostica e monitorarne l'evoluzione. Alcune metodiche strumentali sono correntemente utilizzate ai fini clinico-diagnostici come le metodiche di Neuroimaging convenzionali (TC, RMN) e quelle neurofisiologiche (EEG e Potenziali Evocati a breve latenza); altre tecniche molto importanti sono quelle di Neuroimaging funzionale (SPECT, PET, fMRI). Le misure metaboliche in resting-state, chiamate "studi di attivazione", che utilizzano la PET, possono esser usate per collegare cambiamenti nel flusso sanguigno cerebrale in varie regioni per specificare i processi cognitivi senza il bisogno di alcuna risposta evidente da parte del paziente (Owen et al., 2001). In un primo studio il flusso sanguigno cerebrale è stato misurato in un paziente con diagnosi di stato vegetativo post-traumatico, mentre la madre gli raccontava una storia (De Jong, Willemsen, 1997). In comparazione con suoni senza parole era stata osservata un'attivazione della corteccia del cingolo anteriore e nella corteccia temporale, che riflettono probabilmente un'elaborazione emozionale dei contesti o del tono della voce. Su un altro paziente la PET era stata usata per studiare un'elaborazione visiva nascosta in risposta alle facce famigliari. Era presente un'attività significativa nel giro fusiforme destro, che contiene l'area del riconoscimento dei volti. In entrambi i casi comunque l'attivazione neurale è stata osservata in assenza di risposte comportamentali ad una stimolazione esterna sensoriale (Menon et al., 1998).

Un significativo sviluppo in questo campo che si è evoluto rapidamente è stato il passaggio dall'utilizzo della PET a quello funzionale della risonanza magnetica funzionale. In uno studio di risonanza magnetica è stata osservata l'attivazione cerebrale in 7 pazienti a cui è stato diagnosticato stato vegetativo, più 4 pazienti in MCS. L'esame veniva eseguito mentre i pazienti sentivano il loro stesso nome pronunciato da una voce familiare. Due dei pazienti VS non hanno presentato attivazioni significative, 3 hanno mostrato un'attività nelle aree uditive primarie. Gli altri due pazienti VS, così come i pazienti MCS, hanno mostrato attività in aree di ordine superiore del lobo

temporale. Sebbene questo risultato sia importante soprattutto per il fatto che gli ultimi due pazienti VS che hanno avuto attivazioni più soddisfacenti sono poi passati ad uno stato minimo di coscienza nei mesi dopo, comunque manca una specificità cognitiva. L'attivazione potrebbe esser dovuta anche al semplice ascolto di un parlare generico piuttosto che specificamente al parlare del proprio familiare o ad uno dei possibili processi cognitivi correlati a stimoli uditivi (Di, H. B. et al. 2007). Gli studi di fMRI in pazienti in stato vegetativo potrebbero esser condotti in maniera gerarchica, iniziando con la forma più semplice di elaborazione in un dominio particolare e poi proseguendo in modo sequenziale attraverso funzioni cognitive più complesse. In un dominio cognitivo tali compiti dovrebbero incrementare da un'elaborazione acustica base di suoni non vocali, a suoni con aspetti più complessi di comprensione del linguaggio. Al più alto livello si potrebbero investigare risposte a frasi contenenti parole ambigue semanticamente paragonate a risposte a frasi contenenti parole non ambigue, in modo da rilevare l'attività neurale associata alla comprensione del linguaggio parlato (Owen e Coleman, 2008). Dunque i dati di neuroimaging funzionale possono essere utilizzati come una forma di "risposta comportamentale", cioè per sostituire il discorso o l'atto motorio nei pazienti per i quali tali forme di espressione comportamentale non sono disponibili?

In uno studio recente (Boly et al. 2007) è stato chiesto a 34 volontari sani di immaginare di giocare a tennis quando sentivano la parola "tennis" e di immaginare di camminare da una stanza all'altra della propria casa quando sentivano la parola "casa", mentre erano all'interno dello scanner. Durante il primo compito (tennis) si attivava la SMA (area supplementare motoria), mentre durante il secondo compito (casa) si attivava l'area paraippocampale, il lobo parietale posteriore e la corteccia premotoria laterale. Questo conferma che è possibile studiare l'attivazione di un' area motoria anche senza la diretta risposta motoria (fig. successiva).

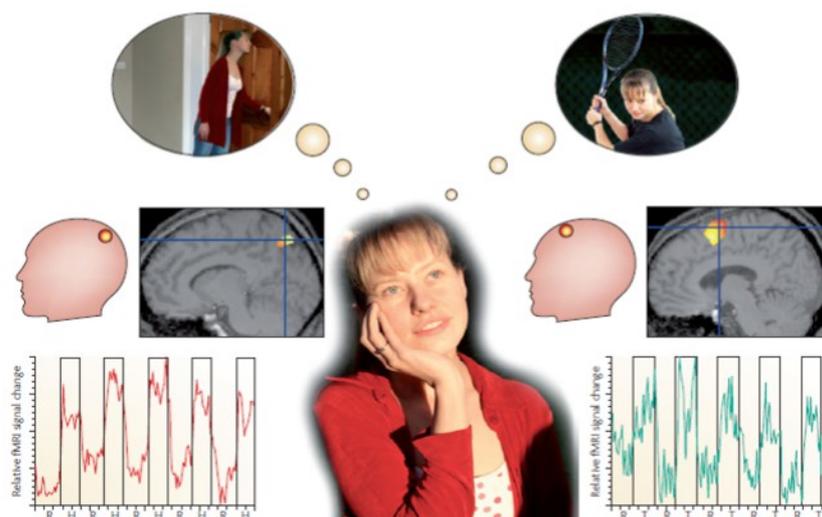


Figura 4: cambiamenti nell'attività cerebrale durante un compito di immaginazione motoria (giocare a tennis o camminare per casa).

Questo stesso approccio è stato usato in due esperimenti successivi (Owen et al., 2006; 2007) per dimostrare che una giovane donna in VS fosse, in effetti, consapevole e fosse in grado di dare una risposta usando la sua attività cerebrale. Prima della scansione MRI alla paziente era stato chiesto di eseguire due compiti di immaginazione mentale come quelli descritti nell'esperimento di Boly et al. Differentemente dai soggetti sani analizzati in quest'ultimo esperimento, in questo caso (Owen et al., 2006; 2007) la paziente non doveva fare alcuna associazione tra la parola "tennis" e l'immaginazione motoria, ma doveva solo immaginare di giocare a tennis o di camminare per casa quando le veniva chiesto esplicitamente. Per il compito in cui si doveva immaginare di giocare a tennis era stata osservata un'attivazione della SMA come i 34 volontari della ricerca precedente (Boly et al., 2007). Per il secondo compito c'era la stessa attivazione trovata nei soggetti sani. Secondo gli autori la paziente presentava tutti i criteri per la diagnosi di stato vegetativo, ma aveva la capacità di comprendere i comandi vocali e risponderne confermando di essere cosciente e consapevole di se stessa e dell'ambiente esterno (fig. successiva).

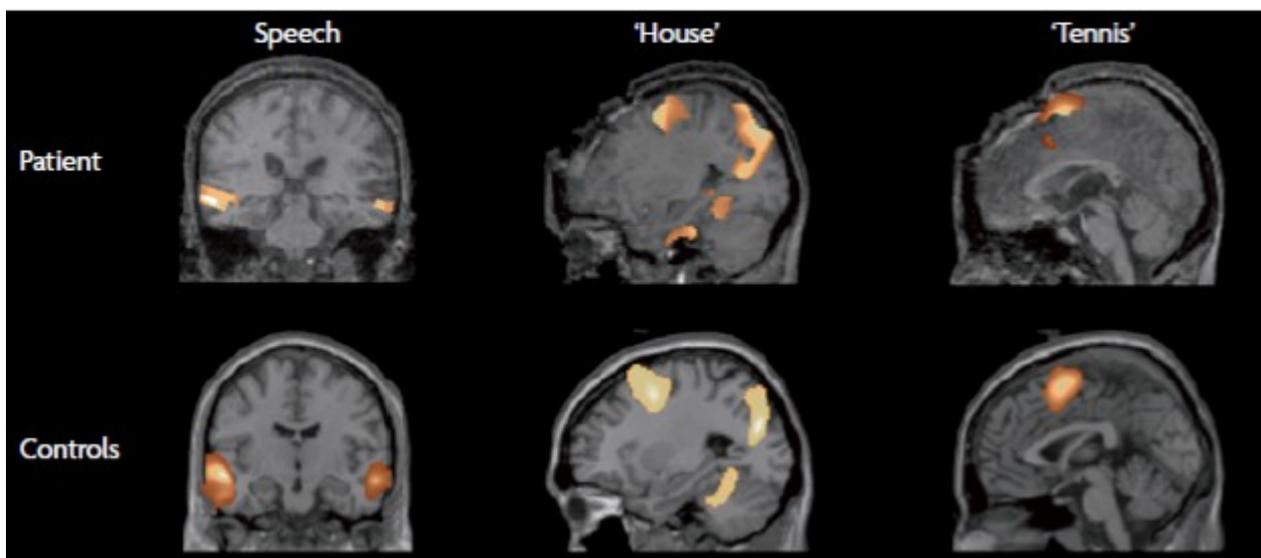


Figura 5: risposte coscienti a stimoli in una paziente che mostra tutti i criteri del VS.

Altri dati su volontari sani ricavati da studi di apprendimento implicito e di effetto priming che hanno studiato il comportamento e la comprensione degli stimoli vocali durante l'anestesia (Davis et al., 1996), hanno dimostrato che alcuni aspetti della cognizione umana possono funzionare in assenza di consapevolezza. Anche il contenuto semantico delle *masked informations* (stimoli che vengono presentati in modo da non esserne consapevoli), può essere innescato per influenzare un comportamento successivo senza l'esplicita conoscenza da parte del partecipante, suggerendo che alcuni aspetti del processo semantico potrebbero verificarsi senza una consapevolezza cosciente

(Dehaene, S. et al. 1998).

Dunque, risposte neuronali “normali” in pazienti che sono in stato vegetativo non necessariamente indicano che i pazienti hanno esperienza di coscienza associata all'elaborazione di questi tipi di stimoli. L'attivazione osservata della paziente degli studi di Owen nel compito di immaginazione mentale, potrebbe aver riflettuto una risposta neurale implicita preconsa. Una tale spiegazione potrebbe richiedere prove empiriche, in primo luogo, che la parola “tennis” possa produrre statisticamente un cambiamento significativo nell'attivazione della SMA di un singolo individuo non consapevole. Secondo, che la parola “casa” possa produrre un cambiamento statisticamente significativo in regioni anatomicamente diverse del cervello compreso il lobo parietale e la corteccia paraippocampale, nello stesso individuo inconscio. E terzo che in entrambi i casi, queste risposte siano sostenute per un massimo di 30 secondi per poi fermarsi quando al partecipante (inconscio) viene presentata un'altra parola (come rest/baseline).

Nello studio sui volontari di Boly et al. e nella paziente riportata da Owen et al., l'attività osservata non era transitoria, ma persistente per 30 secondi per ogni compito immaginario, tempo molto più lungo di quanto ci potessimo immaginare se la risposta fosse stata automatica. In aggiunta, l'attivazione dei pattern che era stata osservata nei volontari e nella paziente era stata interamente predetta ed erano state localizzate non in regioni cerebrali che sono conosciute per essere coinvolte nell'elaborazione del linguaggio, ma piuttosto in regioni che sono conosciute per esser coinvolte nei due compiti di immaginazione che era stato chiesto ai partecipanti di eseguire prima della sessione di scansione. Quando le parole “tennis” e “casa” vengono presentate a soggetti istruiti, non c'è un'attivazione sostanziale né nella SMA né nel parietale.

È importante, inoltre, capire se la paziente descritta sia un caso unico o se sia probabile che ci siano altri pazienti apparentemente vegetativi con segni di consapevolezza non comportamentali. Sono stati trovati segni di consapevolezza comparabili a questi in un uomo di 46 anni che ha subito un trauma cranico (Owen, 2006). Quando quest'uomo è stato valutato entro 6 mesi dall'incidente, utilizzando valutazioni comportamentali riconosciute su sessioni ripetute, non mostrò nessun segno comportamentale di risposta sostenuta producibile o intenzionale alla stimolazione sensoriale o cognitiva. Tuttavia, quando gli è stato chiesto di immaginare di giocare a football lui ha dimostrato una chiara attivazione della SMA coerente con quello dei volontari sani che eseguivano lo stesso compito. Tuttavia questo secondo caso è l'unico altro esempio di consapevolezza descritto con paradigmi simili. C'è da aggiungere che entrambi i pazienti sono stati valutati entro i 6 mesi dal trauma e quindi prima delle soglie di tempo critico relative alla probabilità di un ulteriore recupero. Questo primo periodo dopo la lesione cerebrale da trauma è ampiamente riconosciuto come il

tempo durante il quale avviene il più grande cambiamento nei pazienti affetti, fino al 20% dei pazienti successivamente recuperano la coscienza, e il 5% recupera un certo livello di indipendenza sociale.

La visione prevalente non è quella che l'imaging neurale dovrebbe sostituire le valutazioni comportamentali, ma piuttosto che essa dovrebbe essere utilizzata, dove possibile, per acquisire ulteriori informazioni sul paziente. In tal modo ci si può aspettare che l'attuale tasso di diagnosi errata decada. I pazienti saranno esaminati con tutti gli strumenti disponibili e sarà data loro la più ampia opportunità di rispondere. Allo stesso modo i team di assistenza avranno le migliori informazioni possibili per gli interventi di pianificazione e monitoraggio che facilitano il recupero dei pazienti. Per quanto i marcatori comportamentali e le neuroimmagini indubbiamente possano rivelare incoerenze, sono proprio queste incoerenze che alla fine miglioreranno la precisione di diagnosi in questo gruppo di pazienti. Utilizzando la risonanza in questo modo si spiana la via per applicazioni nuove e innovative di neuroimmagini funzionali, sia in base alla pratica neuroscientifica che clinica. Per esempio la presenza di risposte di risonanza dipendenti da un compito e riproducibili che si attivano in risposta ad un comando senza il bisogno di pratica, suggerisce un nuovo metodo con cui sia i partecipanti sani che i pazienti potrebbero essere in grado di comunicare i loro pensieri a quelli che li circondano semplicemente modulando la loro attività neurale. Tuttavia, le sue implicazioni cliniche e scientifiche, sono così importanti che tali sforzi sono chiaramente giustificati.

L'esame comportamentale al letto del paziente, lo standard migliore per la valutazione clinica della coscienza, può essere limitato in un paziente con deficit neuronali (ad es. afasia), in uno stato fluttuante (ad es. correlato all'eccitazione, al dolore, alle complicazioni mediche), nell'interpretazione soggettiva dell'esaminatore di risposte ambigue (Gill-Thwaites, 2006). Queste limitazioni comportano un tasso di circa il 40% di pazienti consci definiti come inconsci (Childs et al., 1993; Andrews et al., 1996; Schnakers et al., 2009). Dato che il recupero precoce della coscienza è associato ad un miglior funzionamento a lungo termine delle risposte (Giacino e Kalmar, 1997; Whyte et al., 2001), l'assenza di uno strumento diagnostico affidabile per rilevare la coscienza nell'unità di terapia intensiva (ICU) crea incertezza per le famiglie che affrontano decisioni sulla continuazione dei trattamenti vitali e limita l'accesso alle cure riabilitative per i pazienti che hanno prognosi scadenti imprecise.

Studi che utilizzano stimoli linguistici e musicali passivi hanno dimostrato che alcuni pazienti affetti da disturbi post-traumatici cronici della coscienza dimostrano risposte della corteccia associativa, nonostante l'assenza di evidenze comportamentali di espressione linguistica e di

comprensione (Coleman et al., 2009; Okumura et al., 2014), uno stato definito come dissociazione della corteccia motoria di ordine superiore (HMD) (Edlow et al., 2017). Eppure, nessuno studio si è concentrato sui pazienti con TBI acuto grave. La rilevazione precoce della coscienza e la funzione corticale di alto ordine in questa popolazione informa la diagnosi del livello di coscienza, ma potrebbe anche predire il successivo recupero di significative funzioni neurologiche (Giacino e Kalmar, 1997; Whyte et al., 2001; Coleman et al., 2009; Stender et al., 2014). Inoltre, informazioni precoci, affidabili e oggettive sul livello di coscienza di un paziente possono essere d'aiuto per la decisione del caregiver o del familiare riguardo la vita del paziente.

Ed è per questo motivo che più recentemente è stato svolto uno studio osservazionale prospettico in cui sono stati coinvolti 16 pazienti (Edlow et al., 2017), i quali erano ricoverati nell'unità di terapia intensiva per lesioni cerebrali acute gravi dovute ad un trauma. Questo esperimento ha voluto investigare se in pazienti privi di evidenza comportamentale di espressione e comprensione linguistica, la risonanza magnetica funzionale e l'elettroencefalografia avessero potuto rilevare l'esecuzione del comando (CMD) durante un compito di immaginazione motoria e le risposte della corteccia associativa (HMD) durante gli stimoli linguistici e musicali. E inoltre si è voluto capire se risposte precoci a questi paradigmi fossero poi associate a risultati migliori sulla scala Gaslow. Questi pazienti sono stati sottoposti sia a risonanza magnetica funzionale che ad elettroencefalografia in giorni diversi. Dopo queste analisi la dissociazione cognitiva-motoria è stata identificata in quattro pazienti, di cui tre, la cui diagnosi comportamentale suggeriva uno stato vegetativo; la completa assenza di risposte alle immagini linguistiche, musicali e motorie è stata osservata solo nei pazienti in coma. Nei pazienti con evidenza comportamentale di funzione linguistica, le risposte al linguaggio e alla musica sono state osservate più frequentemente rispetto alle risposte alle immagini motorie. Queste osservazioni suggeriscono che la risonanza magnetica funzionale e l'elettroencefalografia possono rilevare la funzione corticale di comando e di ordine superiore in pazienti con grave lesione cerebrale traumatica acuta. La figura che segue mostra delle funzioni rappresentative: risposte di fMRI e EEG per un soggetto sano e un paziente in coma, dunque privo di prove di risonanza e EEG.

Le osservazioni sui pazienti in terapia intensiva con TBI acuta grave di questo studio (Brian et al., 2017) sono coerenti con quelli di precedenti studi di fMRI e EEG in pazienti con disturbi di coscienza cronici (Lule et al., 2013) (Hauger et al., 2015). Questo studio suggerisce anche che i punteggi della scala Gaslow non sono correlati all'fMRI ed EEG.

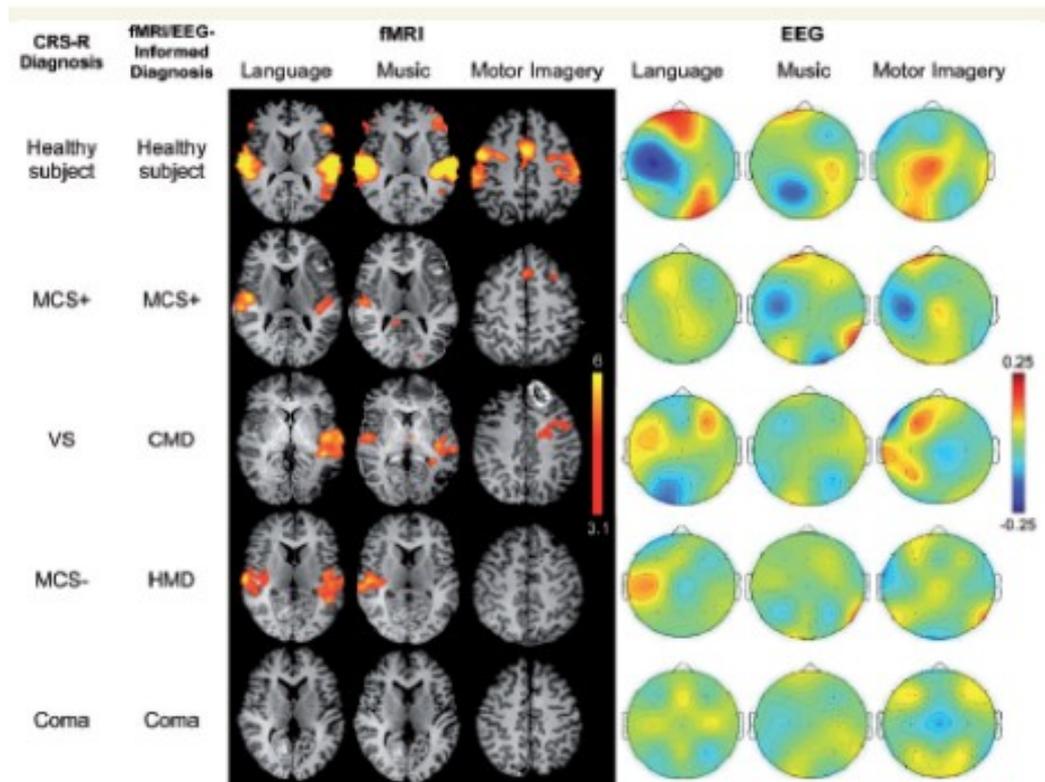


Figura 6: risposte fMRI e tracciati topografici di EEG in soggetti sani e con DOC.

Schiff e altri (2005) hanno mostrato un'ampia attivazione corticale in due pazienti con diagnosi clinica di MCS nel confronto tra l'ascolto passivo di frasi e del discorso invertito durante la risonanza. Un altro studio di risonanza magnetica funzionale (Coleman e altri 2009) ha dimostrato risposte neurali preservate a stimoli uditivi complessi in pazienti VS. Davis (2007) ha applicato un compito linguistico gerarchico a soggetti sani durante l'anestesia. Come risultato si è visto che non erano presenti attivazioni significative della corteccia frontale inferiore e temporale posteriore in risposta a frasi ambigue e non ambigue, invece le aree temporali superiori si attivavano durante l'ascolto di frasi rispetto al rumore usato come baseline. Gli stessi autori hanno applicato quest'ultimo paradigma su pazienti DOC e hanno mostrato alcune evidenze di preservazione dell'elaborazione vocale. Uno studio più ampio (Coleman e altri 2009) con 19 pazienti, chi in VS chi in MCS, ha mostrato attivazioni per frasi con significato. Le correlazioni dell'elaborazione semantica sono state esplorate anche in pazienti DOC utilizzando potenziali evocati (Rohaut 2015). In particolar modo sono state osservate un potenziale evento-correlato N400 in una percentuale variabile di pazienti VS e MCS, mentre un complesso positivo tardivo (LPC) era osservato solo in pazienti MCS; da notare che su 3 pazienti MCS che mostrano un potenziale N400 e un LPC

conservati, due hanno recuperato abilità linguistiche funzionali e coscienza (Nigri et al., 2016).

Per questi motivi è stato svolto un altro studio sulla capacità di elaborazione linguistica in questi pazienti dell'istituto di neurologia "Carlo Besta" di Milano (Nigri et al., 2016). In questo studio è stato applicato un paradigma di stimolazione uditiva gerarchica per la risonanza, in un gruppo di pazienti adulti affetti da DOC, utilizzando un paradigma di *priming semantico* (una tecnica consolidata per sondare aspetti automatici dell'elaborazione lessico-semantica (McNamara 2005)). Nei paradigmi di priming semantico la presentazione di parole target viene preceduta da un prime, cioè una parola che può fornire o no un contesto semantico, e per il quale non è richiesta alcuna risposta. Il compito decisionale lessicale è molto spesso usato per valutare gli effetti priming. Un target, cioè una stringa di lettere che può essere, per esempio, una parola reale o una non parola, segue la presentazione del prime. Ai partecipanti viene chiesto di decidere se lo stimolo target era una parola reale o no. Di solito le decisioni vengono prese più rapidamente e con precisione quando le parole target sono precedute da una parola prime correlata (per esempio mucca-latte, piuttosto che balcone-latte) che indica il riconoscimento di una parola facilitata dal prime. È stata dunque adottata una versione acustica passiva del compito, per determinare l'estensione dell'elaborazione lessico-semantica restante, cioè, percezione e riconoscimento di parole e comprensione del loro significato, nei pazienti DOC. Quindi in questo studio sono state valutate le attivazioni in due livelli di elaborazione, lessicale e semantica, che sono coinvolte nella comprensione linguistica. Sono stati analizzati 14 pazienti con deficit cerebrali dovuti a trauma (TBI), ad emorragie (HBI), o ad anossia (ABI). Per quanto riguarda i soggetti sani analizzati prima dei pazienti, come gruppo di controllo, è stata riscontrata un'attivazione del *giro temporale superiore bilaterale*, del *giro frontale mediale e inferiore*, e del *cervelletto* durante la presentazione di uno stimolo sonoro neutro a confronto con la condizione baseline (LLA). In secondo luogo, è stata osservata un'attivazione del *giro frontale inferiore sinistro*, *giro frontale mediale*, *giro temporale inferiore*, *lobo parietale inferiore* durante il compito di contrasto lessicale in cui veniva fatto il confronto tra le parole meno le pseudoparole (LEX). Poi è presente un'attivazione del *giro temporale superiore bilaterale* (dovuta ad un'analisi di tipo fonologico), per quanto riguarda il contrasto tra le pseudoparole e parole (PWef). Poi un'attivazione nel *giro frontale medio sinistro* e nel *giro angolare*, per quanto riguarda l'effetto del contrasto tra parole correlate semanticamente (latte-mucca) meno parole non correlate semanticamente (latte-balcone) (SR). E per ultimo si può affermare che non c'è alcuna attivazione significativa per quanto riguarda l'effetto del contrasto tra parole non correlate semanticamente meno parole correlate semanticamente (SUR).

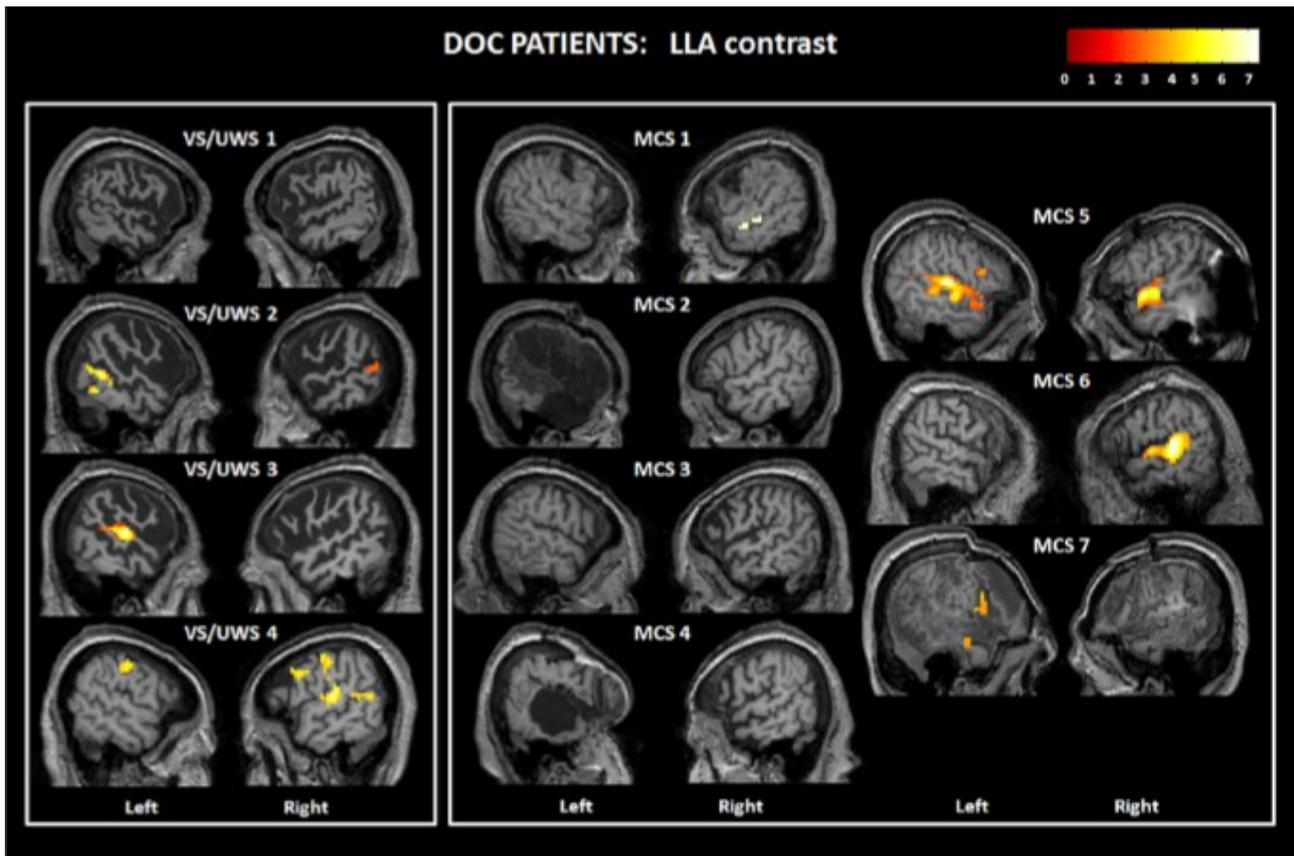


Figura 7: Attivazioni nei pazienti DOC durante la presentazione dello stimolo sonoro neutro a confronto con la baseline.

Nel complesso, il modello dell'attività rilevata in tutti questi pazienti che presentavano attivazioni significative era localizzato in aree della rete linguistica (*giro frontale inferiore e mediale, giro temporale superiore e medio e le regioni parietali*), strettamente simile alle aree linguistiche emerse nei partecipanti sani (*giro frontale inferiore e giro frontale mediale, giro temporale superiore, e regioni parietali*). Le attivazioni osservate nei pazienti, tuttavia, erano meno estese rispetto ai partecipanti sani, e sono state caratterizzate da uno schema impreciso e meno focale.

I risultati dello studio di Nigri et al. indicano che l'elaborazione lessicale automatica può essere osservata non solo in pazienti con MCS, ma anche nei pazienti VS / UWS, come indicato dall'aumento nell'attività BOLD nella rete linguistica (Friederici 2011; Prezzo 2012). Questo studio quindi fornisce ulteriori prove del potenziale ruolo della fMRI nella valutazione dell'elaborazione cognitiva residua, che potrebbe non essere evidente a livello clinico, in alcuni di questi pazienti.

Recentemente è stato eseguito un altro studio per colmare il divario sulla valutazione della consapevolezza nei pazienti DOC (Naro et al., 2017). Sono stati scelti quattordici pazienti con DOC post-traumatico e dieci controlli sani (HC) a cui sono stati posti tre compiti motori relativi

all'attivazione del Sistema Mirror (osservazione del movimento, la sua esecuzione, immaginazioni motorie passive) durante la registrazione dei parametri elettroencefalografici (EEG) per rilevare i segni residui di coscienza. La scoperta più rilevante è stata che tutti i soggetti sani (gruppo di controllo), tutti i pazienti con MCS, e uno con UWS, hanno dimostrato una sincronizzazione evento correlata sulle regioni frontali sinistre nelle condizioni di osservazione di immagini motorie passive. Questi dati sono correlati in modo significativo con il livello di reattività comportamentale misurato dalla CRS-R. Quindi i risultati di questo studio indicano che le attività motorie relative al Sistema Mirror possono attivare reti fronto-parietali, sebbene conducano a processi consci differenti. Quindi la valutazione MNS può essere impiegata per differenziare i pazienti DOC tra loro.



Figura 8: Disegno sperimentale. Tutti i pazienti si sono sottoposti ad EEG mentre si eseguiva l'osservazione (MO), l'esecuzione (ME) e l'immaginazione (MI) del movimento di raggiungimento e afferramento di una penna.

Per concludere questo capitolo, è importante ricordare che il paziente che ha subito un coma è pertanto l'emblema di tutta la patologia invalidante che il riabilitatore deve prendere in carico: neurologica, psicologica, internistica, propria dell'apparato locomotore. La sua riabilitazione è un viaggio dalla morte alla vita ed è una sfida appassionante per ridare un'identità ed un ruolo ad una persona, che la malattia ha escluso per breve o per lungo tempo e che arriva alla presa di coscienza di un vissuto unico ed irripetibile, tale da cambiarlo comunque e da modificare anche l'ambiente di chi lo circonda. Va riorganizzata la coscienza, la motilità e la personalità del paziente. Le fasi del risveglio motorio, psicologico, neuropsicologico hanno delle analogie con le fasi dello sviluppo, complicate e distorte dai nuclei frammentati dei pensieri, dei ricordi, degli apprendimenti e della storia della personalità precedente. Il paziente regredisce ed in un certo senso bisogna rispettare la

regressione anche se il compito riabilitativo è ipoteticamente l'accelerazione del suo risveglio e la normalizzazione del suo sviluppo e della sua personalità.

## Capitolo 3

### **Attivazione del Sistema dei Neuron Specchio in pazienti in stato vegetativo e in stato di minima coscienza: uno studio pilota di Risonanza Magnetica Funzionale.**

#### **3.1 Ipotesi e obiettivi di ricerca**

I pazienti con disordini di coscienza (DOC) possono essere classificati in stato vegetativo (VS) o in stato di minima coscienza (MCS). Al momento, l'approccio neuroriabilitativo principale continua ad essere limitato a causa dell'incapacità dei pazienti di compiere movimenti volontari. La riabilitazione dei pazienti con DOC è un tema importante da affrontare con un programma completo mirato ad aumentare il recupero funzionale dei pazienti. L'efficacia di un programma di riabilitazione intensivo di tipo sensoriale, ad esempio, è stata dimostrata in diversi studi (Padilla and Domina, 2006).

In questi ultimi anni, è stato introdotto un approccio terapeutico innovativo basato sulla scoperta del Sistema dei Neuron Specchio (MNS), una rete neurale parieto-frontale che si attiva sia durante l'esecuzione che durante l'osservazione di azioni finalizzate. Quest'approccio terapeutico è chiamato Action Observation Therapy (AOT) ed è basato su un paradigma di osservazione di azioni, seguite dalla loro immediata riproduzione. Virtualmente, l'AOT può avere effetti favorevoli sulla riabilitazione motoria in pazienti adulti e bambini affetti da vari tipi di disturbi motori in cui non è possibile effettuare un training differente, a causa della presenza di dolore cronico, infiammazione, fatica muscolare ecc. (Ertelt et al. 2007; Buccino et al. 2012; Sgandurra et al., 2013).

Il principale obiettivo del presente progetto di ricerca proposto è quello di investigare le basi neuronali del sistema dei Neuron Specchio nei pazienti con DOC per individuare la presenza di attività funzionale nelle regioni cerebrali parieto-frontali, misurando il segnale BOLD durante lo svolgimento di compiti passivi in risonanza magnetica. In particolare lo studio prevede lo svolgimento di due tipi di compiti: un compito audio visivo di osservazione e ascolto di azioni di bocca transitive e intransitive, e un compito di ascolto di verbi.

Si tratta di uno studio pilota ancora in corso presso l'Istituto Carlo Besta di Milano in collaborazione con il dipartimento di Medicina e Chirurgia dell'Università di Parma.

L'ipotesi è che anche nei pazienti con DOC si possa osservare la presenza residua di attivazioni

funzionali del Sistema specchio. Qualora l'ipotesi fosse dimostrata questo rappresenterebbe il substrato neurale alla base dell'uso dell'AOT come approccio riabilitativo in questa tipologia di pazienti.

## **3.2 Materiali e metodi**

### **3.2.1 Pazienti**

I pazienti sono stati reclutati da diversi centri di riabilitazione e LTC (Long Term Care) della regione Lombardia. Il giorno della risonanza il paziente è stato trasportato da un'ambulanza e portato in loco almeno un'ora prima dell'inizio della sessione di fMRI.

I pazienti sono stati reclutati secondo questi criteri di inclusione: A) età maggiore dei 18 anni; B) pazienti stabilizzati da un punto di vista clinico, come dichiarato dal medico responsabile dell'Istituto di provenienza; C) presenza di un accompagnatore; D) diagnosi confermata di stato di minima coscienza o stato vegetativo diagnosticati con valutazione CRS-R (vedi paragrafo successivo). I criteri di esclusione per la partecipazione allo studio erano i seguenti: A) alto livello di spasticità (Ashworth > 3); B) controindicazioni all'esecuzione di esami di MRI (impianti metallici, pacemaker, epilessia incontrollata); C) pazienti con lesioni estese della rete neurale fronto-parietale, come valutato da esami di risonanza precedentemente svolti.

Attualmente i pazienti che sono stati reclutati e sottoposti a tale indagine sono cinque. Lo studio prevede il reclutamento di un numero totale di venti pazienti in VS e venti in MCS.

### **3.2.2 Valutazione dei Disordini di Coscienza**

Per la valutazione dei pazienti inclusi nello studio è stata utilizzata una scala che tiene conto delle raccomandazioni dell'Aspen Workgroup, ossia la scala Coma Recovery Scale – Revised (Giacino et al., 2004; versione italiana Lombardi et al., 2007), che attualmente si configura come l'unico strumento che include i criteri diagnostici attuali (SV-MCS).

La CRS è composta da sei sottoscale: una scala per la funzione uditiva che va dal punteggio 0 che indica *“nessuna risposta”*, per proseguire con *“reazione di sussulto uditivo”*, *“localizzazione del suono”*, *“movimenti riproducibili su ordine”*, per ultimo (punteggio 4) *“movimenti consistenti su ordine”*. Una scala per valutare la funzione visiva con punteggio da 0 a 5 partendo da: *“nessuna risposta”*, *“reazione di sussulto visivo”*, *“fissazione”*, *“inseguimento visivo”*, *“localizzazione dell'oggetto / raggiungimento”*, *“riconoscimento dell'oggetto”* (massimo punteggio). Una scala per

la funzione motoria con un range che va da 0 a 6 partendo da “nessuna risposta / flaccidità”, “postura anomala”, “allontanamento in flessione” (riflesso flessorio), “localizzazione dello stimolo nocicettivo”, “manipolazione degli oggetti”, “risposte motorie automatiche”, “uso funzionale dell’oggetto”. Una scala per la funzione motoria oro/verbale, con un punteggio da 0 a 3 a partire da “nessuna risposta”, “movimenti orali riflessi”, “vocalizzazioni / movimenti orali”, “verbalizzazione comprensibile”. Una scala per la funzione comunicativa, con un range da 0 a 2 partendo da “nessuna risposta”, “presenza di comunicazione non funzionale / intenzionale”, “comunicazione funzionale / appropriata”. L’ultima scala è quella per valutare la vigilanza, ha un punteggio da 0 a 3 a partire da “non risvegliabile”, “apertura occhi con stimolazione”, “apertura occhi senza stimolazione”, “attenzione”.

APPENDIX

JFK COMA RECOVERY SCALE-REVISED © 2004  
VERSIONE ITALIANA © 2007

Scheda di registrazione

Questa scheda dovrebbe essere utilizzata solo insieme con le "Linee guida per le modalità di Impiego e di determinazione del punteggio della CRS-R" che forniscono le istruzioni per la somministrazione standardizzata della scala.

Paziente: \_\_\_\_\_ Diagnosi: \_\_\_\_\_ Etiologia: \_\_\_\_\_

Data di insorgenza: \_\_\_\_\_ Data di ricovero: \_\_\_\_\_

Data	Giorno	Ric	Punteggio														
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>Scala per la funzione uditiva</b>																	
4	Movimenti consistenti su ordine*																
3	Movimenti riproducibili su ordine*																
2	Localizzazione del suono																
1	Reazione di sussulto uditivo																
0	Nessuna risposta																
<b>Scala per la funzione visiva</b>																	
5	Risposta motoria automatica*																
4	Localizzazione dell'oggetto: raggiungimento*																
3	Inseguimento visivo*																
2	Fissazione*																
1	Reazione di sussulto visivo																
0	Nessuna risposta																
<b>Scala per la funzione motoria</b>																	
6	Uso funzionale dell'oggetto*																
5	Risposte motorie automatiche*																
4	Manipolazione degli oggetti*																
3	Localizzazione dello stimolo nocicettivo*																
2	Allontanamento in flessione																
1	Postura anomala																
0	Nessuna risposta/flaccidità																
<b>Scala per la funzione motoria orale/verbale</b>																	
3	Verbalizzazione comprensibile*																
2	Localizzazione/movimenti orali																
1	Movimenti orali riflessi																
0	Nessuna risposta																
<b>Scala per la comunicazione</b>																	
2	Funzionale: Appropriata*																
1	Non funzionale: Intenzionale*																
0	Nessuna risposta																
<b>Scala per la vigilanza</b>																	
3	Attenzione																
2	Apertura degli occhi senza stimolazione																
1	Apertura degli occhi con stimolazione																
0	Non risvegliabile																
<b>PUNTEGGIO TOTALE</b>																	

**Scala per la funzione uditiva**

4	Movimenti consistenti su ordine*
3	Movimenti riproducibili su ordine*
2	Localizzazione del suono
1	Reazione di sussulto uditivo
0	Nessuna risposta

Figura 1: un esempio di parte della griglia di valutazione della CRS.

Il singolo punteggio, di una singola sottoscala, è sufficiente per diagnosticare VS, MCS, EMCS. I singoli punteggi delle sottoscale si sommano per dare un punteggio globale. Le richieste degli stimoli da proporre al paziente sono svolte in ordine decrescente, per esempio per valutare la funzione uditiva viene fatta una richiesta di movimento oculare o degli arti prima senza la presenza di un oggetto, poi in presenza di un oggetto e successivamente viene fatto sentire un rumore forte o uno stimolo uditivo (voce) dietro al paziente e fuori dal campo visivo. Oppure, per valutare la

funzione visiva, si richiede al soggetto di riconoscere due oggetti, poi di toccare un oggetto con il braccio o la gamba appropriati, successivamente, si incoraggia il soggetto a guardarsi ad uno specchio posto di fronte a lui dallo sperimentatore, poi si pone di fronte al soggetto un oggetto brillante, colorato o illuminato, insomma particolarmente vistoso ed infine gli si pone una minaccia visiva. Questi sono solo alcuni esempi che dimostrano il modo in cui vengono stimolati i pazienti prima di stilare il CRS da parte degli esaminatori. La CRS distingue VS, MCS, EMCS con criteri facilmente definibili (uniformità del linguaggio) e valuta longitudinalmente lo stato di coscienza del paziente.

I punteggi corrispondenti alla valutazione di ciascun pazienti incluso nello studio sono riportati nel paragrafo successivo (Risultati). Da notare che solo in alcuni pazienti è stato possibile ripetere la valutazione CRS il giorno dell'esame fMRI.

### **3.2.3 Paradigma sperimentale e compiti**

I pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti ad una sessione di fMRI che prevedeva due periodi (RUN) di acquisizione consecutivi nella stessa giornata. Il disegno sperimentale utilizzato era un disegno sperimentale a blocchi, in cui venivano alternati nel tempo due tipologie di eventi: compito (task) e condizione di riposo (rest). Il blocco di task era composto da una serie di eventi simili successivi. Il blocco di riposo (rest) serviva invece come baseline: il soggetto doveva rimanere in condizione di riposo senza eseguire nessun compito particolare.

Queste due condizioni permettono di ottenere delle informazioni sulle aree che si attivano, confrontando il segnale BOLD (blood oxygen level dependent) in fase di attivazione con quello basale. In questo caso abbiamo presentato ai pazienti due paradigmi sperimentali: A) compito audio-visivo, il quale era finalizzato allo studio delle attivazioni cerebrali durante l'osservazione e l'ascolto di azioni transitive (action transitive) e intransitive (action intransitive) eseguite con la bocca da un attore o da un'attrice ripresi in prospettiva frontale (vedi figura...); B) compito linguistico, finalizzato a mappare le attivazioni durante l'ascolto di verbi di azione (action verbs) e verbi astratti (abstract verbs).

#### **COMPITO AUDIO-VISIVO**

La durata di ciascun videoclip era di 2 secondi. Le azioni transitive osservate/ascoltate erano le seguenti: mordere una mela, soffiare un palloncino, bere da una cannuccia, soffiare dentro una cannuccia. Le azioni intransitive erano: baciare, schioccare la lingua, fischiare e sputare. Come stimoli di controllo, al fine di escludere dalle attivazioni cerebrali le aree implicate nell'elaborazione

puramente visiva e uditiva degli stimoli, sono stati utilizzati videoclip raffiguranti veicoli in movimento (ctrl vehicles) e scene della natura (ctrl environment). In particolare come veicoli sono stati utilizzati: treno, elicottero, traffico stradale, automobile. Le scene della natura presentate includevano: cascata, temporale, mare in risacca, vento tra gli alberi.

Nel compito audio-visivo le condizioni sperimentali e di controllo sono state presentate in blocchi indipendenti di 16 secondi ciascuno, comprendenti 8 video per blocco. L'intera sessione di acquisizione (il compito è stato svolto in 2 run) includeva un numero totale di 16 blocchi sperimentali e 16 blocchi di controllo. Per ogni condizione sono stati presentati un numero totale di 64 ripetizioni. Il tempo di acquisizione di ciascuna run era di circa 7,2 minuti.

### Audiovisual Task (runs 1-2)

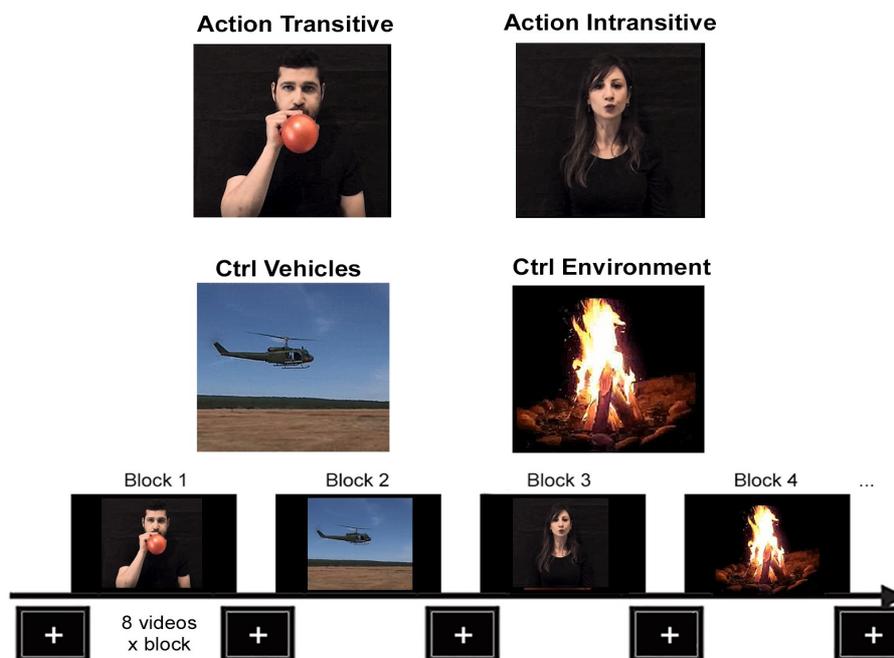


Fig. 2: Immagini che rappresentano i blocchi audio-visivi che vengono fatti vedere ai pazienti tramite visori. I blocchi rappresentano le azioni transitive e intransitive di bocca alternati ad immagini di controllo rappresentanti stimoli naturali o veicoli in movimento.

## COMPITO LINGUISTICO

Gli stimoli audio sono stati presentati in run separate (run 3 e 4) mediante un paradigma a blocchi alternati, dove ciascun blocco prevedeva la presentazione di 8 verbi consecutivi della stessa condizione (action verbs, abstract verbs). Tutti gli stimoli audio sono stati registrati utilizzando la voce di un'attrice o un attore italiani madrelingua. In particolare gli attori pronunciavano quattro differenti verbi d'azione (sputa, soffia, mastica, bacia) e quattro differenti verbi intransitivi (medita, sogna, ignora, dubita), pronunciati in tono imperativo.

### Listening Task (run 3-4)

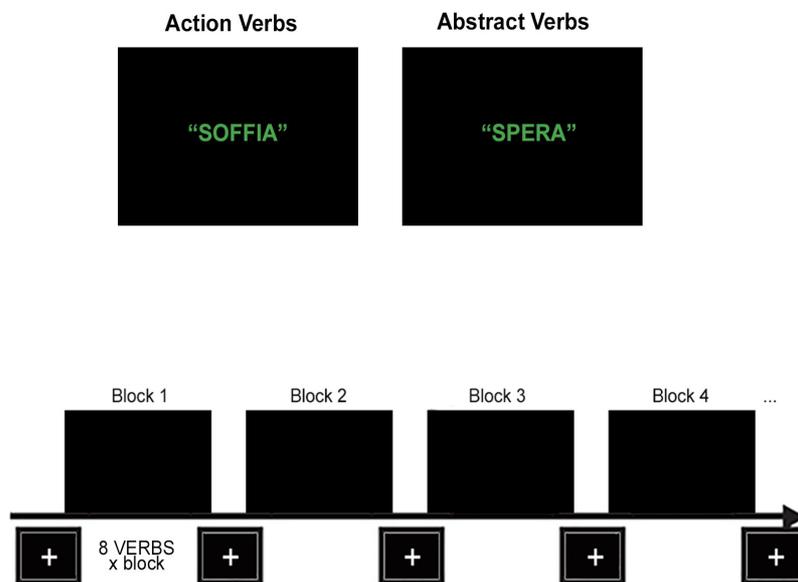


Fig.3: Immagini che rappresentano i blocchi uditivi che vengono fatti ascoltare ai pazienti tramite cuffiette. I blocchi sono composti da verbi di azione e verbi astratti (come CTRL).

Al fine di stimare alcuni parametri linguistici che potrebbero mettere in luce differenze tra le categorie di stimoli utilizzati, è stato utilizzato un database lessicale per parole italiane ([www.ge.ilc.cnr.it/lessico.php](http://www.ge.ilc.cnr.it/lessico.php)). La tabella n° 1 riporta la significatività statistica per i parametri esaminati. Le uniche differenze emerse tra le due categorie di stimoli presentati riguardano i parametri di immaginabilità e concretezza. Tutti gli stimoli audio sono stati registrati mediante un microfono professionale a condensazione (RODE NT1) posto a 30 cm dall'attore. Successivamente

gli stimoli sono stati convertiti in formato digitale e processati mediante il software Cool Edit Pro.

#### Riepilogo test delle ipotesi

	Ipotesi nulla	Test	Sign.	Decisione
1	La distribuzione di LIPlemma è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,686 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
2	La distribuzione di NumerodifoniNumPhones è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,886 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
3	La distribuzione di numerodisillabeSumSylls è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,343 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
4	La distribuzione di numerodivocini fonologiciPhon_N è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,343 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
5	La distribuzione di onsetTokenF è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,114 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
6	La distribuzione di finalTokenF è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,686 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
7	La distribuzione di sommaTokenF è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,486 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
8	La distribuzione di immaginabilità è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,029 <sup>1</sup>	Rifiuta l'ipotesi nulla.
9	La distribuzione di familiarità è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,486 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
10	La distribuzione di concretezza è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,029 <sup>1</sup>	Rifiuta l'ipotesi nulla.
11	La distribuzione di valenza è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,886 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
12	La distribuzione di arousal è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,686 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.
13	La distribuzione di medialTokenF è la stessa tra le categorie di classe.	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	,886 <sup>1</sup>	Mantieni l'ipotesi nulla.

Tabella 1: significatività statistica per i parametri linguistici esaminati che sono stati utilizzati durante l'esperimento.

### **3.2.4 Procedura sperimentale**

Il paziente era posizionato nello scanner MR in un ambiente poco luminoso. Gli stimoli visivi erano presentati su piano fronto-parallelo, mediante un sistema video digitale (visori) (frequenza 60 Hz) con una risoluzione di 800 pixel orizzontali x 600 pixel verticali con campo visivo orizzontale di ampiezza 30° (Resonance Technology). Al fine di contenere il più possibile i movimenti involontari della testa del paziente sono stati utilizzati dei cuscini e altri mezzi di restrizione meccanica. Al fine di attutire il rumore dello scanner e presentare gli stimoli audio sono state utilizzate delle cuffie con meccanismo pneumatico. La trasmissione digitale del segnale allo scanner avveniva mediante fibra ottica.

## **3.3 Gli strumenti**

### **3.3.1 Acquisizione delle immagini di Risonanza**

Le immagini morfologiche e funzionali sono state acquisite mediante un tomografo operante a 3 Tesla (Philips Achieva), sito presso l'Istituto Carlo Besta di Milano, equipaggiato con una bobina di ricezione testa a 8 canali. All' inizio della scansione è stato acquisito un volume tridimensionale ad alta risoluzione pesato in T1 (3D magnetization-prepared-rapid-acquisition gradient echo MPRAGE), utilizzato successivamente per la coregistrazione anatomico-funzionale.

Il protocollo di analisi morfologica comprendeva anche ulteriori sequenze (T2, FLAIR, DTI) per approfondimenti clinici.

Tutte le immagini funzionali sono state acquisite mediante sequenza Gradient-Echo Planar Imaging (EPI) con i seguenti parametri: 37 slice trasversali, slice thickness= 3mm, più un gap interslice= 0,29 mm, con un FOV = 240 x 240mm, risoluzione spaziale del voxel= 3 x 3 x 3,5 mm, TR= 2000 mm, TE= 28 ms, flip angle= 80°. Per ciascuna run è stato acquisito un numero di 216 volumi, quindi in totale 432 volumi per il compito audio-visivo (AV) e 456 per il compito linguistico (LANG).

### **3.3.2 Analisi Statistica dei dati**

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software SPM12 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, University College, Londra, Regno Unito). Operante sulla piattaforma MATLAB R2018 (The Mathworks, Inc.). La prima parte delle analisi, nota come preprocessing era finalizzata all'elaborazione iniziale delle immagini. Le immagini strutturali sono state centrate manualmente e

riorientate con le immagini funzionali. Per ciascuno dei cinque pazienti tutti i volumi funzionali sono stati corretti per il tempo di acquisizione, mediante procedura *slices timing correction* e riallineati spazialmente al primo volume della sessione funzionale e corretti per il movimento della testa. Successivamente l'immagine strutturale pesata in T1 è stata coregistrata all'immagine media prodotta dallo step di *realignment*. I parametri di movimento derivanti dallo step di *realignment* sono stati successivamente rimodellizzati come regressori separati per tenere in considerazione il movimento della testa lungo le tre possibili dimensioni dello spazio. Tramite la funzione del software FSL *outlier time point detection*, i volumi corretti dal movimento sono stati estratti e utilizzati successivamente come *multiplor regressor* (ovvero come variabili di disturbo). In seguito è stata eseguita una segmentazione dell'immagine 3D pesata in T1 in sostanza grigia, bianca e liquor cerebrospinale, per ottenere i parametri necessari allo step di normalizzazione allo spazio MNI (Montreal Neurological Institute). Infine è stato applicato uno smoothing spaziale basato su un filtro *full-width half-maximum isotropic Gaussian kernel* di 5 mm.

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il GLM (modello lineare generale), le risposte fMRI di ciascun paziente sono state modellizzate utilizzando una matrice che comprendeva l'inizio in secondi (onset) dei blocchi e le rispettive durate (duration) per ciascuna condizione, il modello comprendeva quindi, per entrambe le sessioni AUDIO-VISUAL (run 1-2), tre predittori corrispondenti alle condizioni sperimentali e di controllo (transitive actions, intransitive actions e CTRL) più sei predittori ottenuti dalla correzione dei movimenti della testa e i volumi identificati come corrotti (utilizzati come nuisance variables), e un regressore costante per sessione. Inoltre è stato utilizzato un secondo GLM per la modellizzazione degli eventi per il compito LANGUAGE (run 3-4). In quest'ultimo modello sono stati inseriti due regressori principali (action verbs, abstract verbs), più i parametri di movimento precedentemente descritti. Quindi, per ciascun paziente, sono stati calcolati i contrasti principali (statistica T) fra ciascuna condizione sperimentale e la condizione di rest.

## **3.4 Risultati**

### **3.4.1 Descrizione clinica dei pazienti e indagine morfologica**

Il paziente #1 è un maschio, di 57 anni, in stato di minima coscienza dal 2010, con eziologia spontanea dovuta ad una lesione post emorragica. Il paziente mostra un punteggio totale alla CRS di 10 su 23, con punteggi più elevati in campo visivo (3 su 5) quindi presenta inseguimento visivo

sufficiente. Nell'ambito uditivo mostra un punteggio di 2 su una scala da 0 a 4, quindi riesce a localizzare il suono; in quello motorio un punteggio di 2 su una scala da 0 a 6, quindi mostra un allontanamento in flessione; per quanto riguarda le caratteristiche oro-verbali il punteggio è 1 su 3 partendo da 0, quindi il paziente presenta movimenti orali riflessi; la scala della vigilanza mostra un punteggio di 2 su una scala da 0 a 3 quindi il paziente apre gli occhi senza stimolazione. Le immagini strutturali di risonanza a disposizione, documentano la presenza di un'estesa area malacica con ampie cavità in sede insulare media e posteriore e temporo-parietale sinistra con prevalente interessamento della sostanza bianca periventricolare e sottocorticale e della corteccia parietale e inferiore. È presente una dilatazione ventricolare sinistra con stiramento del trigono verso l'area malacica. Assottigliamento del tronco encefalico evidente a livello mesencefalico, alterazione del segnale in corrispondenza delle fibre cortico spinali, si estende nel ponte a livello delle piramidi bulbari.

Il paziente #2 ha 25 anni, maschio, è in stato di minima coscienza dal 2015 per causa traumatica dovuta ad encefalopatia post anossica. Le immagini strutturali mostrano atrofia cerebrale grave particolarmente evidente in sede occipitale bilaterale, con assottigliamento della corteccia. Non si osservano alterazioni di segnali focali nel tronco encefalico, nel mesencefalo, nei talami e nei nuclei della base. Per quanto riguarda il punteggio alla CRS in data di acquisizione delle immagini di risonanza per l'esperimento, il punteggio totale è di 15 su 23, con un miglioramento rispetto all'ultima volta che era stato sottoposto alla CRS, in cui aveva avuto un punteggio totale di 14 su 23. Il miglior punteggio è quello sulla scala per la funzione motoria (punteggio 5 su una scala che va da 0 a 6) quindi il paziente è in grado di produrre risposte motorie automatiche; un punteggio di 2 per la funzione oro-verbale significando che il paziente produce vocalizzazioni o comunque movimenti orali a livello verbale; per quanto riguarda le funzioni uditive il paziente presenta un punteggio di 3 su una scala che va da 0 a 4; per la funzione visiva un punteggio di 3 su una scala che va da 0 a 5, il che indica che il paziente riesce a produrre movimenti su ordine per quanto riguarda la funzione uditiva, ed è capace di inseguire visivamente un bersaglio. Infine presenta un punteggio di 2 sulla vigilanza, quindi il soggetto apre gli occhi senza stimolazione. Inoltre il paziente muove indipendentemente l'arto sinistro talvolta con movimenti finalistici, muove spontaneamente la gamba sinistra, sorride spontaneamente, sembra che interagisca emotivamente e ha la capacità di contare fino a 5 con l'aiuto della sorella.

Il paziente #3 è un uomo di 54 anni in stato vegetativo dal 2014, con eziologia traumatica. Secondo le immagini strutturali di risonanza magnetica il paziente mostra un assottigliamento del tronco encefalico, ampliamento del quarto ventricolo e iperintensità in T2 da gliosi della sostanza bianca

profonda degli emisferi cerebellari. Grave atrofia del mesencefalo e dei talami, con depositi di emosiderina da alterazioni post emorragiche del mesencefalo, soprattutto nella metà sinistra e meno nella metà destra. Aree malaciche nella porzione dorsale inferiore dei talami, più estesa a sinistra. Marcata dilatazione idrocefalica dei ventricoli laterali. Quindi si può parlare di un danno assonale diffuso. Il paziente presenta un punteggio totale di 5 sulla scala CRS somministratagli dalla struttura in cui era ricoverato e non dall'istituto Carlo Besta il giorno dell'esperimento per varie problematiche direttive. Il punteggio riguardante la funzione visiva è 0, quindi il paziente non da alcuna risposta di inseguimento visivo, dall'osservazione fatta prima dell'esperimento si nota che il paziente infatti non ha nessuna reazione di sussulto visivo; per quanto riguarda la funzione motoria, uditiva e oro-verbale il punteggio risulta essere di 1, il che significa che il paziente esprime una reazione di sussulto uditivo, per quanto riguarda la postura è anomala, risulta esser tetraplegico con la testa rivolta verso sinistra e non mostra nessun allontanamento in flessione, secondo il punteggio sulla funzione motoria oro-verbale, il paziente presenta solo movimenti orali riflessi. Infine egli presenta un punteggio di vigilanza di 2, infatti mostra apertura degli occhi senza stimolazione.

Il paziente #4 è una donna di 73 anni che ha avuto un ictus ischemico dovuto all'arteria cerebrale media destra. Le immagini di risonanza presentano pregressa craniotomia fronto-temporo-parietale destra. Un grave dilatazione ventricolare sopratentoriale asimmetrica per maggiore ectasia del ventricolo destro. Grave dilatazione del terzo ventricolo. Assottigliamento del tronco encefalico, il mesencefalo è assottigliato e compresso. Nel peduncolo cerebrale e nel talamo destro sono presenti aree con aspetto malacico più evidente. Gravi alterazioni malaciche in sede frontale e temporo-parietale destra, dove è riconoscibile solo una piccola quantità residua di tessuto cerebrale con aspetto gliotico-malacico e con esiti emorragici. In queste sedi la corteccia cerebrale e la sostanza bianca non sono riconoscibili. Invece le circonvoluzioni e la sostanza bianca periferica sono riconoscibili senza grossolane alterazioni morfologiche o di segnale. Le acquisizioni T2\* dimostrano ipointensità da emosiderosi superficiale da esiti di pregressa emorragia. Gravi esiti gliotico-malacico emisferici a destra, con coinvolgimento del mesencefalo e del talamo; atrofia e gliosi del corpo calloso. Atrofia emisferica destra relativamente meno grave. Emosiderosi superficiale. Anche in questo caso la CRS non è stata fatta prima dell'esperimento, ma dalla struttura dov'era ricoverata la paziente, il punteggio totale è di 11 su 23. Con un punteggio maggiore per il fattore visivo, che indica che il paziente riesce ad attuare inseguimento visivo, infatti si è notato che a tratti fissava l'interlocutore. Inoltre si è visto che il soggetto apre gli occhi spontaneamente, ciò rispecchia il punteggio 2 per la funzione di vigilanza. La paziente mostra un punteggio di 2 anche sulle altre funzioni, (uditiva, motoria e oro-verbale) dunque riesce a

localizzare il suono, presenta un allontanamento in flessione, produce vocalizzazioni o movimenti orali. Inoltre è importante sottolineare che la paziente, secondo l'affermazione del marito, in data 19/11/2018 ha pronunciato alcune parole spontanee (“ciao”, “buongiorno”).

Il paziente #5 è una donna di 63 anni, ha subito la rottura di un aneurisma localizzato a livello dell'arteria cerebrale sinistra in questo anno (2019), anche lei presenta un punteggio totale di 11 alla CRS. Con un punteggio di 3 per la funzione visiva, quindi dovrebbe mostrare inseguimento visivo, anche se il giorno dell'esperimento mostra incostante capacità di aggancio dello sguardo; per quanto riguarda la funzione motoria, uditiva e oro-verbale, riporta un punteggio di 2 il che implica che la paziente è capace di localizzare il suono, presenta un allontanamento in flessione dal punto di vista motorio, e produce vocalizzazioni o movimenti orali. Infine per quanto riguarda la vigilanza la paziente è capace di aprire gli occhi senza stimolazione. Presenta una doppia emiplegia. Un movimento dell'arto superiore sinistro non sempre finalizzato, e un movimento ripetitivo dell'indice sinistro. Riguardo le immagini strutturali di risonanza fatte durante l'esperimento, la paziente presenta grave atrofia cerebrale emisferica sinistra con aree gliotico-malaciche e post emorragiche che interessano tutto l'emisfero cerebrale, e che si estendono al talamo e al peduncolo cerebrale sinistro, con iperintensità in T2 che si estende caudalmente fino al ponte. Iperintensità di segnale della sostanza bianca periventricolare a sinistra. Dilatazione asimmetrica del sistema ventricolare. Dunque l'area malacica interessa la corteccia e la sostanza bianca in sede frontale pre e postcentrale sinistra.

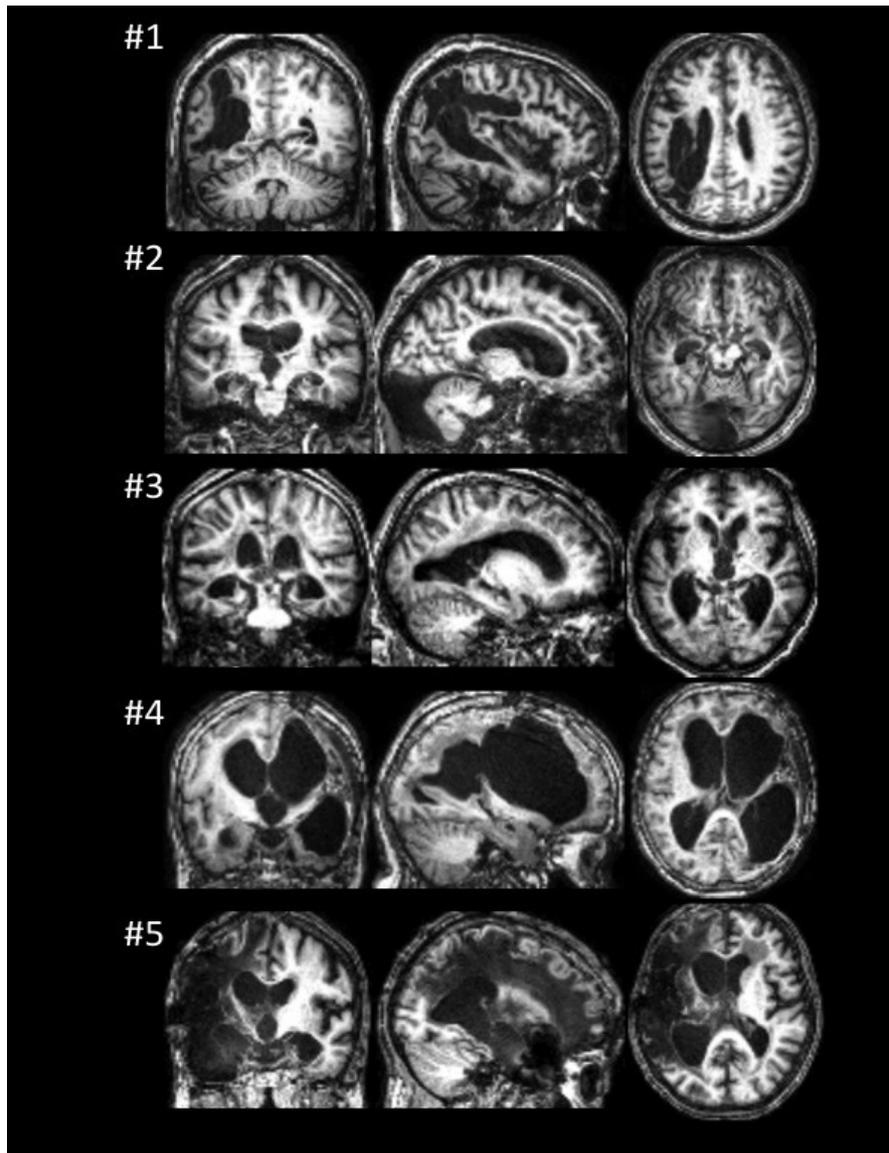
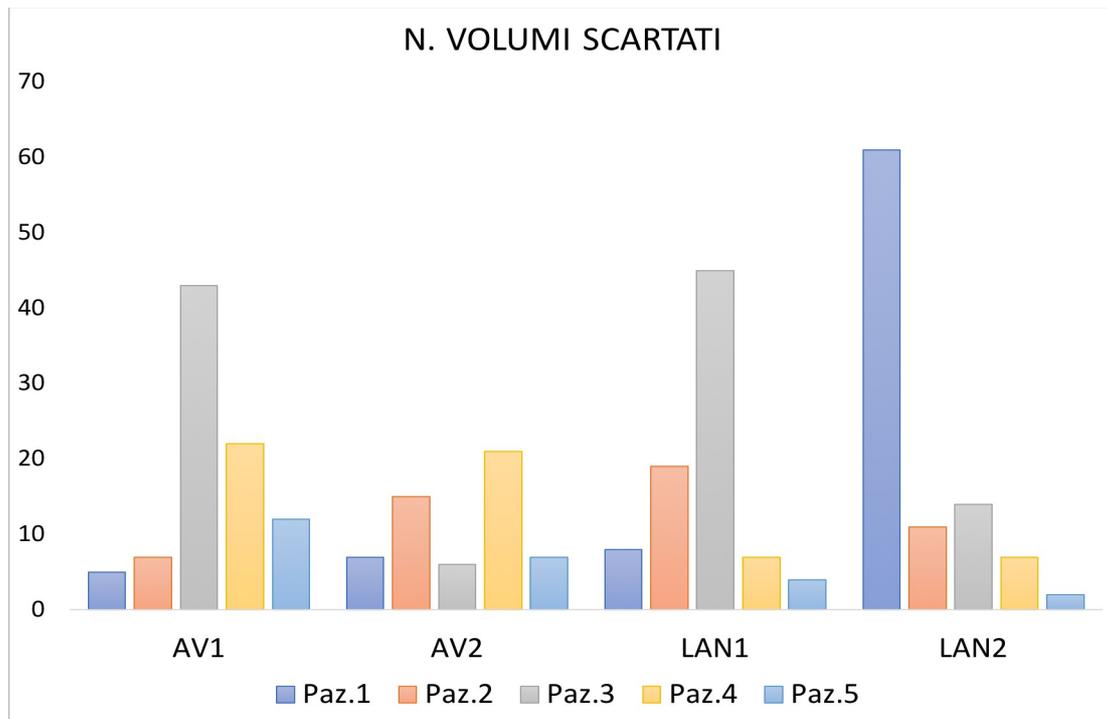


Fig. 4: immagini morfologiche pesate in T1 raffiguranti le lesioni di ciascun paziente. Per ogni paziente l'immagine strutturale è visualizzata in tre sezioni rappresentative: coronale, sagittale e assiale.

### **3.4.2 Analisi dei movimenti spontanei**

I movimenti della testa del paziente sono stati analizzati mediante una procedura di identificazione dei volumi corrotti dal movimento mediante estrazione con funziona di FSL (*outlier time point detection\_fsl.sh*). I volumi corrotti sono rappresentati graficamente nell'istogramma 1 e sono stati utilizzati come regressori multipli all'interno della matrice GLM per l'analisi dei dati.



Istogramma 1: volumi scartati durante l'analisi a causa dei movimenti involontari dei pazienti all'interno dello scanner di risonanza.

### 3.4.3 Attivazioni cerebrali durante il compito audio-visivo

La figura 5 mostra i risultati delle attivazioni cerebrali nei 5 pazienti esaminati durante l'osservazione e l'ascolto di azioni transitive eseguite con la bocca vs la condizione di Rest (baseline). Tutte le immagini sono state prodotte utilizzando una procedura statistica su singolo soggetto, con un threshold di  $p < 0.001$ , uncorrected per confronti multipli, dimensione minima dei cluster = 20 voxel. Da notare che la scala di colore utilizzata permette di osservare sia le attivazioni (scala giallo-rosso), che le deattivazioni (scala blu).

Dai risultati emerge che nel paziente #1 era presente un'attivazione lateralizzata soprattutto nell'emisfero di destra a livello delle aree visive e uditive primarie e secondarie, inoltre sempre nell'emisfero di destra era presente un cluster di attivazione nella corteccia premotoria ventrale. Il paziente #2 mostrava un'attivazione bilaterale a livello della corteccia uditiva primaria e in generale del solco temporale superiore. Tuttavia non erano presenti attivazioni significative nel lobo occipitale. Per quanto riguarda i pazienti #3, #4, #5 erano presenti esclusivamente piccoli cluster di attivazione, probabilmente attribuibili ad artefatti.

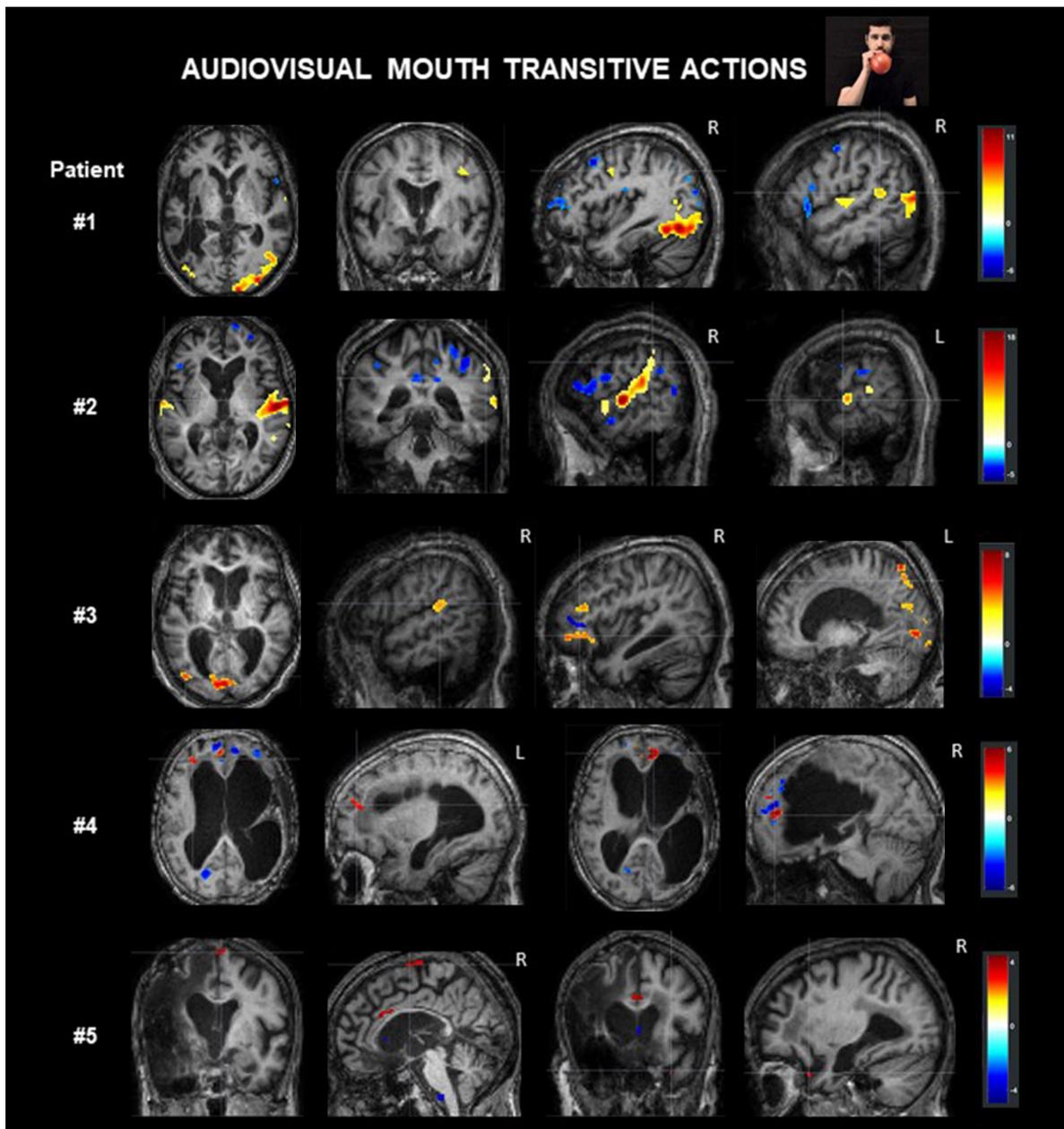


Figura 5: attivazioni cerebrali durante il compito audiovisivo di azioni transitive.

La figura 6 mostra i risultati delle attivazioni cerebrali durante l'osservazione e l'ascolto di azioni intransitive eseguite con la bocca vs condizione di Rest (baseline). Anche in questo caso il paziente #1 mostrava attivazioni lateralizzate all'emisfero di destra a livello della corteccia visiva primaria, della corteccia uditiva primaria, del solco temporale medio e superiore, del solco intraparietale e della corteccia premotoria ventrale e dorsale. Anche il paziente #2 mostrava un aumento del segnale BOLD in corrispondenza delle aree uditive primarie e di ordine superiore, con attivazione lateralizzata in particolare nell'emisfero destro, è interessante notare che era presente un'attivazione significativa della corteccia premotoria, in particolare erano presenti due spot: il primo localizzato a livello della corteccia premotoria ventrale e giro frontale inferiore (IFG) e il secondo localizzato

nella corteccia premotoria dorsale. Inoltre sempre nell'emisfero destro era presente un'attivazione significativa del giro angolare e del solco intraparietale. I pazienti #3, #4 e #5 invece non mostravano attivazioni significative a livello delle cortecce visiva e uditiva primaria, per cui le risultanti attivazioni presenti sono da attribuire ad artefatti dell'immagine.

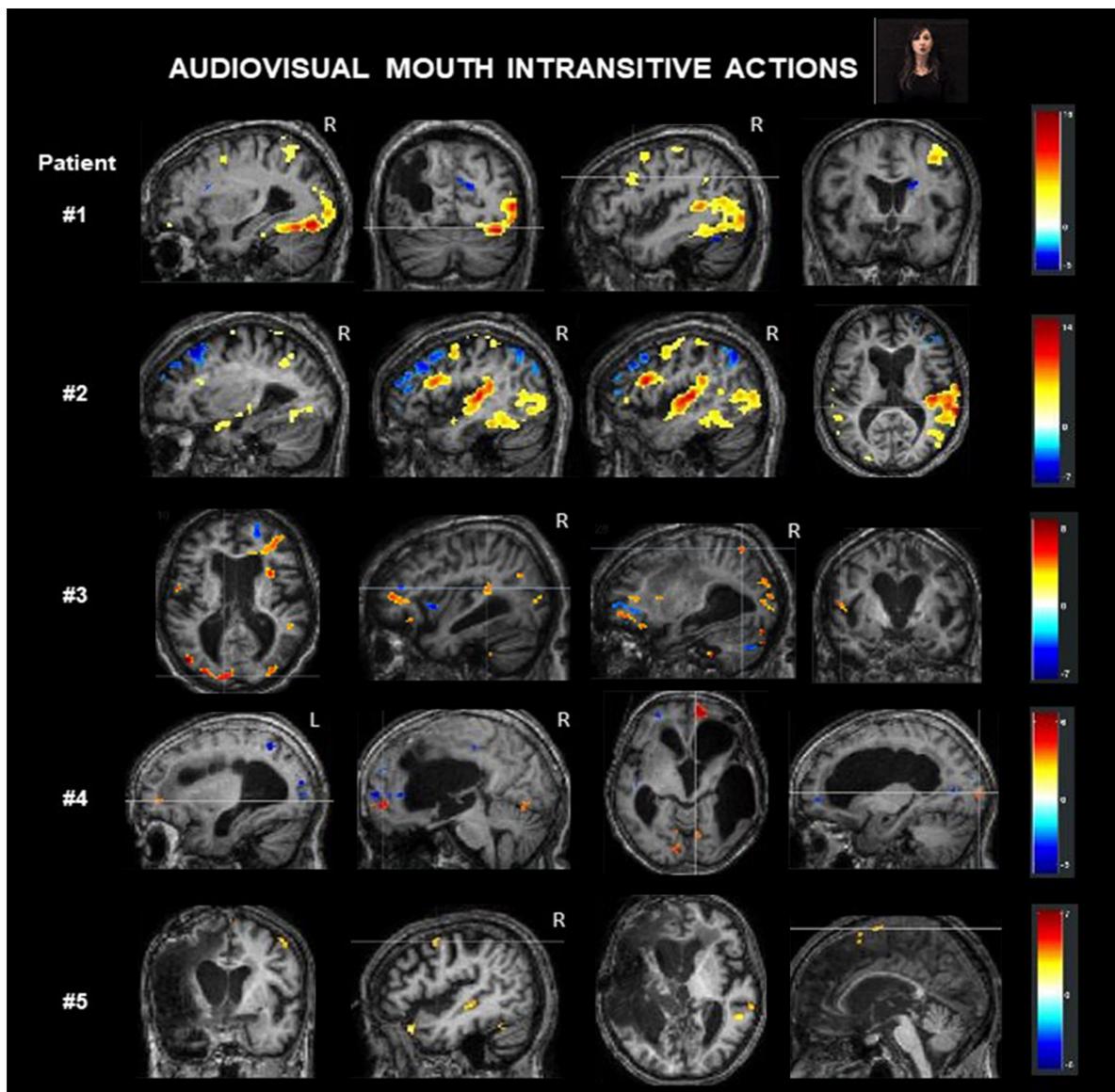


Figura 6: attivazioni cerebrali durante il compito audiovisivo di azioni intransitive.

La figura 7 presenta i risultati delle attivazioni cerebrali presenti durante la somministrazione degli stimoli audiovisivi di controllo (scene di natura e veicoli in movimento). In questa condizione il paziente #1 evidenziava un'attivazione lateralizzata nell'emisfero di destra delle aree occipitali e temporo-occipitali primarie e secondarie, inoltre era presente un cluster di attivazione a livello della corteccia orbitofrontale destra. Il paziente #2 presentava un'attivazione delle aree uditive primarie (bilaterale) e del solco temporale (maggiore a destra), oltre che due piccoli cluster di attivazione nella corteccia premotoria destra. Infine i pazienti #3, #4, #5 non evidenziavano attivazioni

significative, anche se il paziente #5 mostrava un piccolo cluster di attivazione a livello della corteccia visiva primaria di sinistra e attivazioni perilesionali a livello del lobulo parietale inferiore.

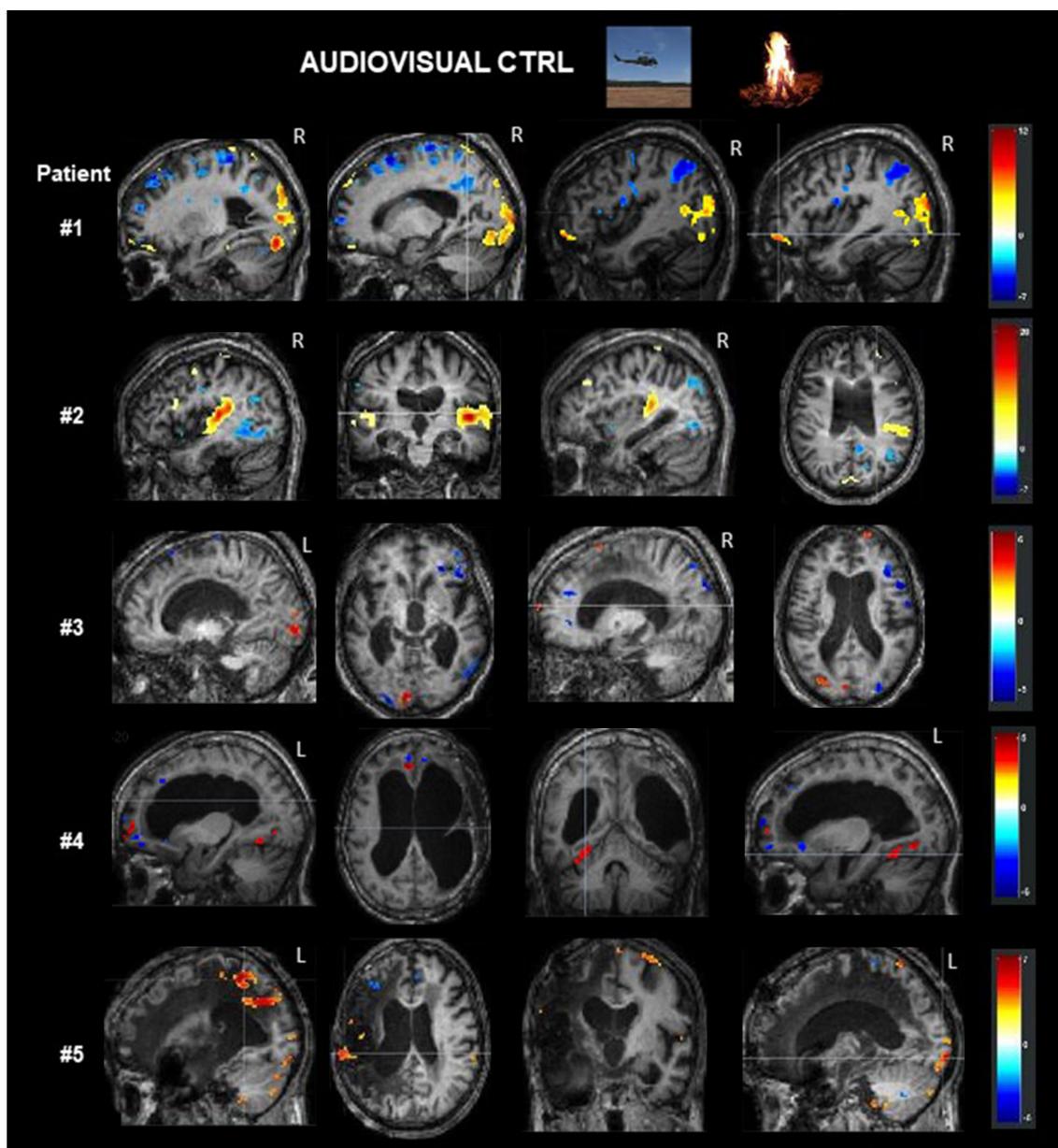


Figura 7: attivazioni cerebrali durante il compito audiovisivo di compiti di controllo.

### 3.4.4 Attivazioni cerebrali durante il compito linguistico

La figura 8 mostra le attivazioni funzionali durante l'ascolto passivo di verbi di azione (soffia, bacía, mastica e sputa). Nel paziente #1 si evidenzia un'attivazione delle aree uditive del solco temporale superiore e del polo temporale dell'emisfero controlesionale destro. Da notare un piccolo cluster di attivazione nella corteccia premotoria ventrale sinistra/ giro frontale inferiore (BA 44). Per quanto

riguarda il paziente #2 era presente un'attivazione bilaterale significativa e consistente delle aree uditive primarie e secondarie. Inoltre l'attività era maggiore nell'emisfero destro e nello stesso emisfero erano presenti cluster di attivazione a livello della corteccia premotoria ventrale e del giro frontale inferiore (pars triangularis e orbitalis). Il paziente #3 e #4 non evidenziavano attivazioni significative delle aree uditive. Infine nel paziente #5 vi era un pattern di attivazione lateralizzato all'emisfero destro controlesionale che comprendeva aree temporali (solco temporale superiore), insula, giro frontale inferiore (pars orbitalis), corteccia premotoria dorsale e corteccia motoria primaria (M1).

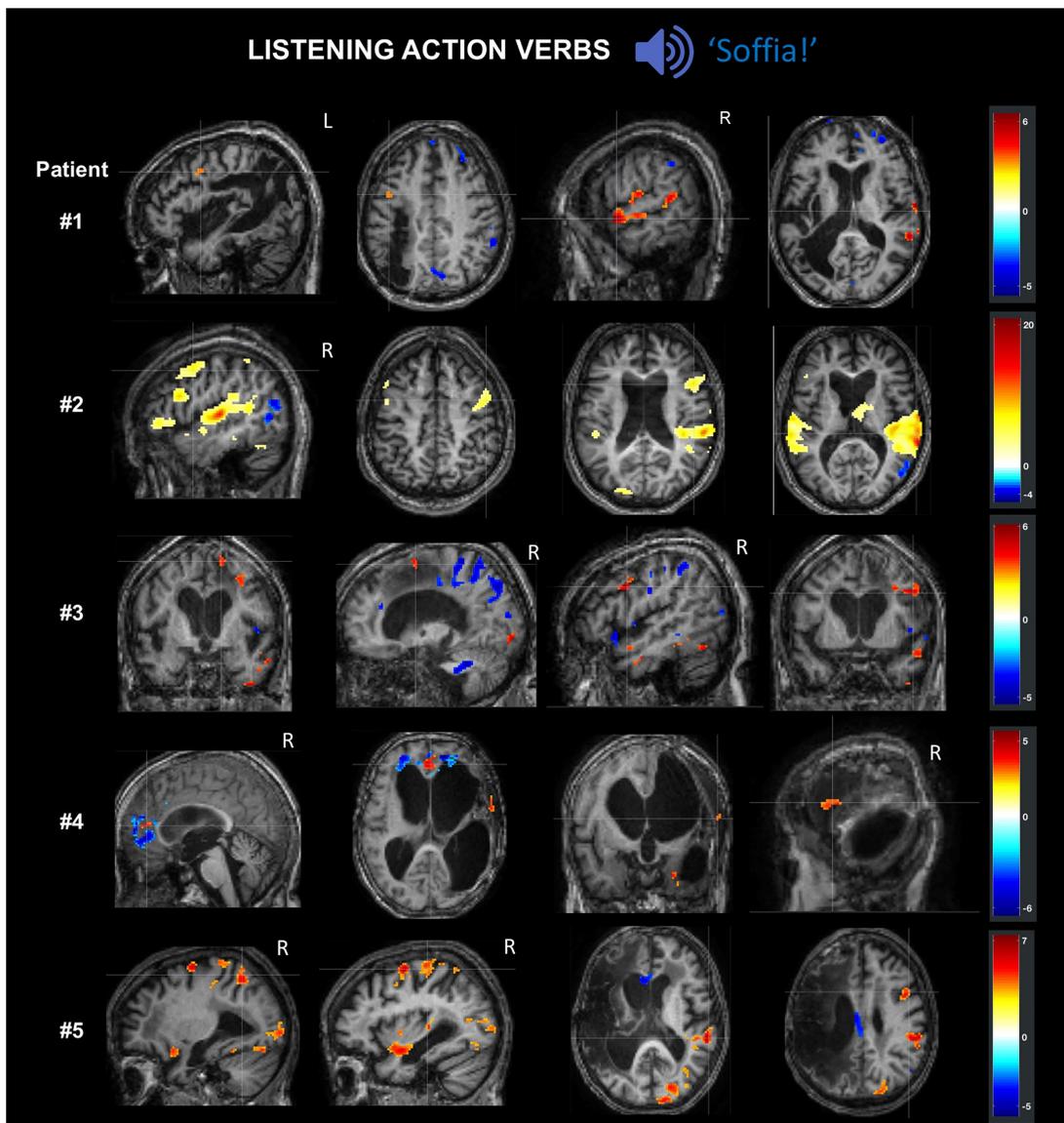


Figura 8: attivazioni cerebrali durante il compito linguistico di ascolto di verbi d'azione.

Durante l'ascolto dei verbi astratti (fig. 9) (“sogna, medita, ignora, dubita”) i risultati hanno dimostrato delle attivazioni significative in particolare nei pazienti #1, #2, #5. Il paziente #1 in particolare mostrava un'attivazione lateralizzata a destra delle aree temporali del solco temporale

medio e superiore e del polo temporale, oltre che un'attivazione significativa del giro angolare destro. Inoltre un cluster di voxel era presente anche a livello della corteccia premotoria ventrale sinistra, adiacente all'area lesionale che comprendeva la sostanza bianca sottocorticale (fascicolo arcuato). Il paziente #2 evidenziava un'attivazione bilaterale temporale che includeva le aree uditive primarie e secondarie, inoltre nell'emisfero controlaterale destro l'attivazione temporale si estendeva includendo anche la corteccia insulare. Inoltre altri cluster di attivazione erano localizzati nella corteccia premotoria ventrale, nel giro frontale inferiore (Broca) e nella corteccia orbitofrontale. Il paziente #5 evidenziava un'attivazione decisamente lateralizzata a destra controlaterale che includeva il solco temporale superiore e la giunzione temporo-parieto-occipitale (TPJ). Nel lobo frontale erano presenti attivazioni significative della corteccia premotoria ventrale (BA 44-45).

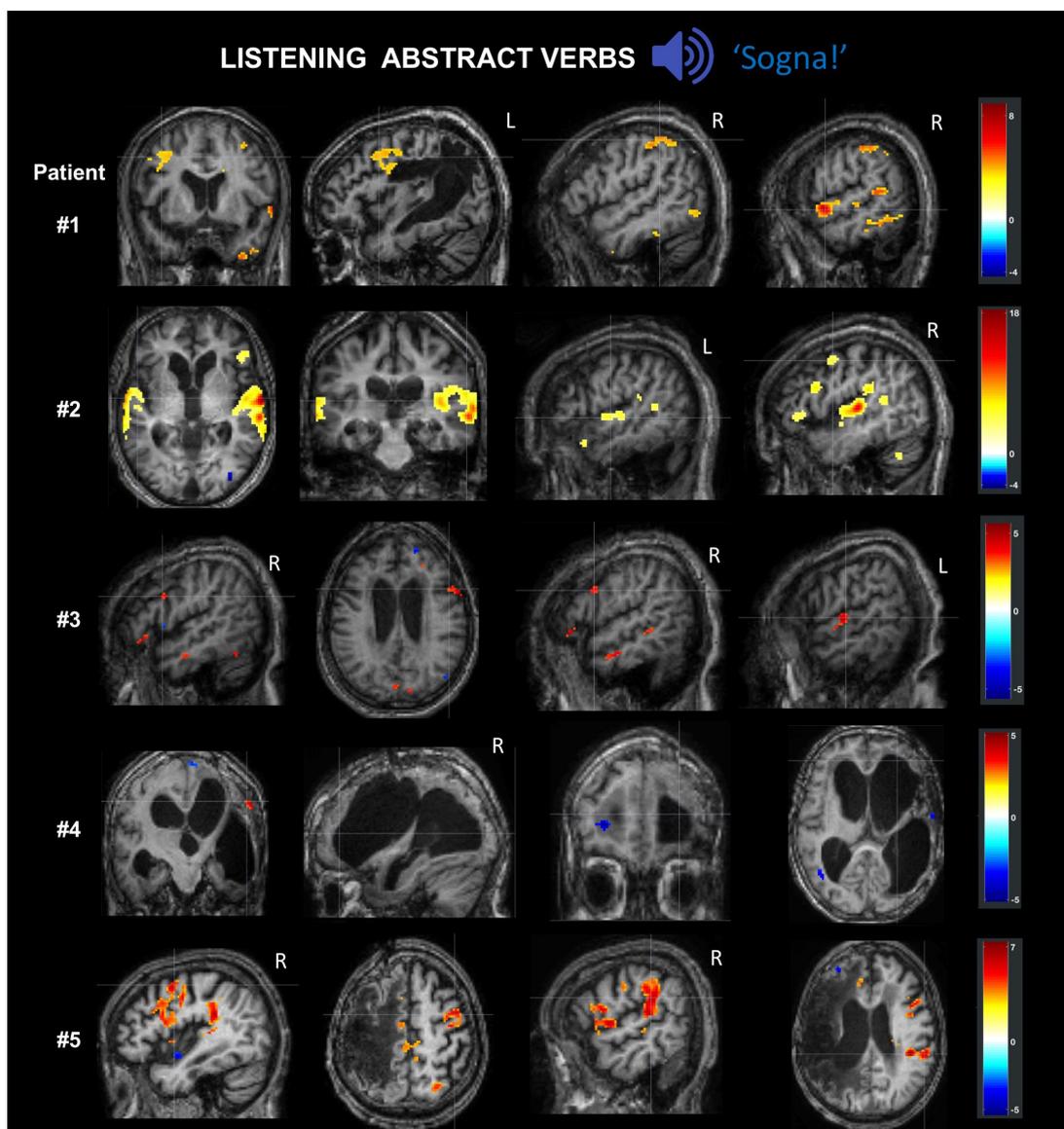


Figura 9: attivazioni cerebrali durante il compito linguistico di ascolto dei verbi astratti.

### 3.5 Discussione

I risultati di questo esperimento preliminare mostrano che dei 5 pazienti analizzati i primi due sono quelli che mostrano in generale maggior attivazione (paziente #1 e #2) nei compiti mirror e linguistico e sono pazienti con MCS, mentre gli altri tre soggetti presentano attivazioni generalmente molto inferiori, ma tra di loro il paziente #5, in alcune condizioni, presenta attivazioni maggiori dei pazienti #3 e #4. Il paziente più grave, dal punto di vista delle attivazioni, risulta essere il #4. Un altro aspetto interessante delle attivazioni è che, laddove presenti, esse riguardano soprattutto l'emisfero di destra, con poche attivazioni bilaterali, e, nello specifico, aree visive, temporali superiori e premotorie, con interessamento anche della corteccia parietale, sempre nel caso in cui ci sia un'attivazione primaria uditiva e visiva.

Nella sezione che segue verranno descritti e commentati alcuni aspetti caratteristici delle attivazioni dei singoli pazienti e si tenterà di fare qualche comparazione tra pazienti.

Il paziente #1 presentava una lesione emorragica nell'emisfero di sinistra, quindi non stupisce che le attivazioni siano più evidenti a destra che a sinistra.

Il paziente #2, nonostante gli stimoli siano stati presentati bilateralmente (il compito audio-visivo e quello uditivo venivano somministrati mediante l'utilizzo di cuffie pneumatiche posizionate su entrambe le orecchie) mostrava attivazioni significative a livello della corteccia uditiva primaria e di ordine superiore, soprattutto a destra; il che significa che in questo paziente erano prevalenti le attivazioni associate agli stimoli presentati a sinistra. Un altro elemento a favore di una predominanza dell'emisfero destro è il comportamento motorio del paziente, che poteva effettuare movimenti indipendenti solo dell'arto sinistro. Questo paziente, come precedentemente affermato, presenta un'atrofia cerebrale in sede occipitale bilaterale (infatti non mostrava attivazioni in sede occipitale) dunque, è interessante notare che è proprio attraverso l'informazione uditiva sul significato motorio, che si attivavano, verosimilmente, delle rappresentazioni corrispondenti. Infatti, c'era un'attivazione premotoria (in particolar modo durante il compito audiovisivo di ascolto dei verbi intransitivi), quindi sembra esservi una certa risonanza. Non è chiaro tuttavia quanto questo sia correlato allo stato di coscienza. E' da ricordare infatti che il paziente #2, il giorno dell'esperimento, presentava un punteggio alla CRS sulla funzione uditiva di 3 su 5, quindi mostrava miglioramenti rispetto alla precedente CRS.

Il paziente #5 risultava avere delle attivazioni non sempre coerenti, in quanto vi erano maggior attivazioni per il compito linguistico sia durante l'ascolto dei verbi astratti che dei verbi concreti, ma non c'era attivazione significativa durante il compito audiovisivo. Ciò potrebbe esser dovuto ad un

problema di metodo di acquisizione, infatti il paziente aveva un punteggio di 3 sulla funzione visiva della scala CRS, ma il giorno dell'esperimento mostrava incostante incapacità di engagement dello sguardo. Purtroppo questi pazienti hanno una riserva cognitiva molto bassa, quindi è possibile che il paziente sia stato maggiormente attento durante il compito linguistico rispetto al compito audiovisivo.

In generale, i risultati preliminari ottenuti su questo primo gruppo di pazienti DOC mostrano che i paradigmi scelti per evidenziare una possibile attivazione del Sistema dei Neuroni Specchio in questi pazienti, possono fornire delle evidenze positive. Infatti si notano attivazioni premotorie, in buona parte nella corteccia premotoria ventrale e nel giro frontale inferiore, e un'attivazione nella corteccia premotoria dorsale (paziente #1). Si può quindi affermare che vi sia un'attivazione del Sistema dei Neuroni Specchio in quanto l'osservazione-ascolto di atti motori di bocca sia transitivi che intransitivi, determinava l'attivazione di aree appartenenti a tale sistema, anche se l'attivazione non era così ampia come ci si potrebbe aspettare in soggetti sani. Questi dati suggeriscono che ci sia una maggior probabilità di trovare nei pazienti MCS un'attivazione anche a livello di aree rostrali, mentre nei pazienti in VS è difficile mostrare una qualsivoglia attivazione di questo tipo, almeno con questa tipologia di compiti.

Come già detto, comparando l'attivazione dei cinque pazienti si nota come due di essi (paziente #1 e #2) mostrino attivazione in tutti i compiti utilizzati, due non mostrino attivazione (#3 e #4) e uno mostri attivazione soprattutto nei compiti linguistici (#5). Infatti il compito linguistico, scelto anche con l'obiettivo di poter vedere l'attivazione in un altro tipo di compito non-mirror (ascolto verbi astratti) rivela effettivamente una buona attivazione ed è l'unico che risulta attivare anche il paziente che non risponde durante il compito mirror (#5).

Dal punto di vista delle lesioni, l'attivazione cerebrale non sembra andare necessariamente in parallelo né con il volume della lesione, né con le scale di valutazione dello stato di coscienza (punteggi alla CRS) in quanto:

A) I pazienti #1 e #2, che presentano l'intensità di attivazione maggiore, sono in effetti pazienti diagnosticabili come MCS, ma lo scoring globale della scala CRS del paziente #1 (punteggio totale alla CRS di 10 su 23) sembra esser paragonabile a quello dei pazienti #4 (punteggio totale di 11) e #5 (punteggio totale di 11), mentre il paziente #2 aveva un punteggio maggiore (15 su 23). Anche le sottoscale uditive e visive non permetterebbero di fare una distinzione tra i pazienti #1, #2, #4 e #5. Nella sottoscala motoria il paziente #2 ha uno scoring maggiore, ma la sua attivazione nel compito mirror non appare così diversa dal paziente #1. Paradossalmente nella sottoscala oroverbale il paziente #1 aveva un punteggio basso, mentre i pazienti #4 e #5 avevano un punteggio di

2. Tuttavia le attivazioni del task linguistico mostravano che il paziente #1 presentava un'attivazione maggiore del paziente #5, mentre il paziente #4 non aveva addirittura attivazione. Il paziente #3 presentava piccoli cluster di attivazione nella corteccia occipitale, nonostante alla CRS avesse un punteggio 0 sulla funzione visiva. Dal punto di vista comportamentale egli non ha nessuna reazione di sussulto visivo (punteggio 0 sulla funzione visiva), ma comunque apre gli occhi in assenza di stimolazione (punteggio 2 sulla vigilanza).

B) Il volume della lesione sembra essere congruente con l'assenza di attivazione presente nel paziente #4, ma non permetterebbe di fare chiare predizioni sull'attivazione per quanto riguarda gli altri pazienti.

### **3.5.1 Considerazioni specifiche**

Il compito mirror è stato proposto secondo le due modalità, uditiva e visiva, in quanto i paradigmi erano composti da un compito audio-visivo di osservazione e ascolto di atti motori di bocca transitivi (gonfiare un palloncino, succhiare da una cannuccia, mordere una mela, soffiare dentro una cannuccia) e intransitivi (baciare, sputare, fischiare, schioccare la lingua), e da un compito linguistico solamente uditivo di verbi d'azione (sputa, soffia, mastica, bacia) e astratti (medita, sogna, ignora, dubita) pronunciati in tono imperativo. Sebbene i primi due pazienti (#1 e #2) abbiano mostrato entrambi un'attivazione di tipo mirror, tuttavia l'analisi dell'attivazione delle aree visive e uditive di tipo primario e secondario suggeriscono che il paziente #1 abbia meglio sfruttato la modalità visiva (solo nell'emisfero destro), mentre il paziente #2 quella uditiva, bilateralmente. Questo conferma dunque la bontà di utilizzare questo tipo di paradigma.

Il paziente in VS (paziente #3) non mostrava neppure attivazioni di aree uditive di basso livello e questo rende impossibile investigare l'attivazione di aree di ordine superiore legate alla stessa modalità sensoriale, mentre i pazienti MCS manifestavano, per esempio, differenza tra attivazioni durante il compito audio-visivo di atti transitivi e intransitivi, infatti durante il compito audio-visivo di atti transitivi sembrava attivarsi maggiormente la aree posteriori della corteccia, mentre durante il compito audio-visivo di atti intransitivi le attivazioni erano più anteriori. Notare che gli atti intransitivi sono comunque atti significativi (baciare, soffiare, sputare, schioccare la lingua), con presenza di deattivazioni maggiori per il compito audio-visivo di atti transitivi. Nei primi due pazienti (#1 e #2), durante il compito audiovisivo di atti intransitivi, si attivava la corteccia premotoria in due settori, uno più ventrale e uno più dorsale, attraverso due canali diversi, visivo nel caso del paziente #1 in quanto non è presente un'attivazione significativa della corteccia temporale, uditivo nel caso del paziente #2, come affermato in precedenza. Un'ipotesi è che l'attivazione

associata all'osservazione/ascolto di azioni intransitive sia maggiore rispetto a quella delle azioni transitive per via della valenza comunicativa/sociale degli stimoli.

Il compito audio-visivo riguardava esclusivamente atti eseguiti con l'effettore bocca. Vi erano però 3 settori (non riferibili ad una chiara somatotopia) di attivazione nel paziente #2 per quanto riguarda il compito audio-visivo dei verbi d'azione, così come avviene nei soggetti sani. L'ascolto dei verbi di azione di bocca attivava sia la corteccia temporale che la premotoria bilaterale, maggiormente a sinistra, ma la localizzazione dell'attivazione non era così ventrale come ci si aspetterebbe se si attivasse la rappresentazione della bocca. Le attivazioni ottenute durante questo compito infatti erano localizzate a livello delle rappresentazioni della bocca (premotoria ventrale), ma a livello premotorio più dorsale (paziente #1), forse a causa del fatto che l'atto osservato, nel caso degli atti transitivi, richiedeva anche l'utilizzo del braccio per portare l'oggetto alla bocca. Infatti l'attore osservato nel videoclip teneva sempre in mano l'oggetto utilizzato durante azioni transitive (palloncino, bicchiere ecc.). Al contrario, nei videoclip riguardanti il compito audio-visivo di atti intransitivi non erano presenti le braccia ma solo la bocca. Tuttavia, dato che questa attivazione più dorsale si osservava anche durante l'osservazione degli atti intransitivi, la presenza del braccio non può essere l'unica spiegazione per l'attivazione più dorsale.

Come già detto, le attivazioni sono prevalentemente presenti nell'emisfero di destra. Questo è probabilmente dovuto alla lateralizzazione della lesione, per cui, essendo lo stimolo audiovisivo presentato centralmente, prevale la componente legata all'emisfero meno danneggiato. Nello stesso tempo, l'attivazione a destra per il compito linguistico, di tipo fonologico-semantic (verbi d'azione) porta a due possibili ipotesi. La prima proporrebbe uno spostamento del controllo linguistico e del processamento verbale nell'emisfero conservato (maggiormente a destra). La seconda proporrebbe che, dato che il materiale linguistico consiste in verbi d'azione della bocca, esso potrebbe determinare un'attivazione bilaterale delle rappresentazioni motorie della bocca di cui, nella fattispecie, resterebbe solo l'attivazione a destra, a causa della lesione. C'è da notare che nei soggetti sani lo stesso tipo di compito audiovisivo di atti transitivi e intransitivi attiva maggiormente l'emisfero di sinistra, mentre il compito linguistico attiva entrambi gli emisferi, in particolare parte della corteccia premotoria e la corteccia uditiva bilateralmente per quanto riguarda l'ascolto di verbi d'azione, solamente la corteccia uditiva bilateralmente per il compito di ascolto dei verbi astratti.

L'ascolto del materiale verbale (compito linguistico di ascolto dei verbi d'azione e verbi astratti) determina attivazione in tre pazienti (#1, #2, #5). Oltre l'attivazione del lobo temporale superiore, compariva anche l'attivazione di altre aree (per esempio la corteccia premotoria, l'insula e la

corteccia orbitofrontale). Tali attivazioni, a parte la già descritta prevalenza a destra, sono compatibili sia con un'attivazione linguistica sia con l'attivazione di aree motorie. E' da notare tuttavia che attivazioni non di tipo linguistico si ritrovano anche all'ascolto di verbi astratti. I compiti linguistici, comunque, generano una forte attivazione, in concordanza con studi precedenti (Nigri et al., 2016; Coleman et al., 2006; Perrin et al., 2006) (vedi Capitolo 2). Si può ipotizzare che gli stimoli presenti nei compiti linguistici, soprattutto i verbi d'azione, siano abbastanza ecologici, in quanto si tratta di verbi imperativi familiari, che i pazienti forse sentono spesso dai loro parenti.

### **3.5.2 Implicazioni sull'utilizzo di questi paradigmi in termini riabilitativi**

In termini riabilitativi qual è la batteria di stimoli che può esser utilizzata per attivare il cervello di questi pazienti? Non si può parlare solo dell'AOT con compiti linguistici. Sarebbe importante presentare anche stimoli oggettuali per produrre l'attivazione di aree primarie, cercando di creare un input massivo presentando stimoli che possano attivare sia il circuito parieto-frontale (Sistema dei Neuroni Specchio), sia aree uditive, visive e somatosensoriali non solo primarie ma anche secondarie, come input ulteriore per attivare poi altri circuiti. Per esempio si è visto come il compito audio-visivo di azioni intransitive generi attivazioni significative, e sembri far trasparire un aspetto di tipo relazionale rispetto agli stimoli tradizionali che si usano nell'AOT che sono focalizzati naturalmente sull'attivazione motoria.

I pazienti inclusi in questo esperimento sono ancora pochi per fare delle considerazioni su quanto possano esser attivati i pazienti DOC con vari stati di coscienza. Questi dati tuttavia suggeriscono che l'idea di poter pensare ad una riabilitazione basata su vari tipi di paradigmi che attivano circuiti complessi potrebbe essere plausibile, perché effettivamente ci potrebbero essere ancora margini per maggiori attivazioni. Resta da stabilire se questi paradigmi debbano esser applicato indistintamente a quasi tutti i pazienti o se sia necessario fare una preferenza solo su una determinata tipologia di pazienti. Questo andrebbe maggiormente verificato con altri strumenti come per esempio l'elettroencefalografia, come è stato sperimentato da Edlow et al. (2017), che aveva tra gli scopi del suo esperimento quello di capire se risposte precoci ad alcuni paradigmi presentati ad alcuni pazienti DOC fossero poi associate a risultati migliori sulla scala Gaslow. (vedi Capitolo 2).

L'AOT utilizza l'imitazione e la successiva produzione motoria. Nel caso dei pazienti DOC, non si può naturalmente parlare di produzione motoria imitativa, quindi non si sa se l'osservazione di per sé porti ad un miglioramento anche se innesca un meccanismo di risonanza motoria che dovrebbe comunque mantenere un'eccitabilità del sistema. Studi precedenti hanno dimostrato che sia l'immaginazione che l'osservazione determinano forte attivazione del sistema specchio, per esempio

in pazienti con Parkinson (Buccino et al., 2011), come se la pura osservazione potesse sollecitare una specie di immaginazione motoria, pur non essendo un'immaginazione motoria volontaria. Con l'immaginazione motoria si utilizzano una serie di risorse cognitive che il soggetto ha e che potrebbero dare un incentivo ulteriore, per esempio al rafforzamento a livello sinaptico. Rimane il problema di capire se la pura stimolazione sensoriale è sufficiente a produrre questo tipo di effetto. Ulteriori studi potrebbero cercare di mettere a confronto gli effetti dovuti alla pura osservazione con quelli determinati dall'osservazione accoppiata a imitazione, sia negli individui sani, sia in differenti tipi di pazienti.

## **Bibliografia**

- 1) “So quel che fai” Giacomo Rizzolatti e Corrado Sinigaglia. 2006
- 2) Small SL, Buccino G, Solodkin A. 2013 Brain repair after stroke: a novel neurological model. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 698–707.
- 3) Buccino G. 2014 Action observation treatment: a novel tool in neurorehabilitation. *Phil. Trans. R. Soc. B* 369: 20130185.
- 4) Fabbri-Destro M, Rizzolatti G. 2008 Mirror neurons and mirror systems in monkeys and humans. *Physiology* 23, 171– 179.
- 5) Stefan K et al. 2005 Formation of a motor memory by action observation. *J. Neurosci.* 25, 9339–9346.
- 6) Celnik P, Webster B, Glasser DM, Cohen LG. 2008 Effects of action observation on physical training after stroke. *Stroke* 39, 1814– 1820.
- 7) Porro CA, Facchin P, Fusi S, Dri G, Fadiga L. 2007 Enhancement of force after action observation: behavioural and neurophysiological studies. *Neuropsychologia* 45, 3114 – 3121.
- 8) Gatti R, Tettamanti A, Gough PM, Riboldi E, Marinoni L, Buccino G. 2013 Action observation versus motor imagery in learning a complex motor task: a short review of literature and a kinematics study. *Neurosci. Lett.* 540, 37– 42.
- 9) Bassolino M, Campanella M, Bove M, Pozzo T, Fadiga L. In press. Training the motor cortex by observing the actions of others during immobilization. *Cereb. Cortex.*
- 10) Ertelt D, Small S, Solodkin A, Dettmers C, McNamara A, Binkofski F, Buccino G. 2007 Action observation has a positive impact on rehabilitation of motor deficits after stroke. *Neuroimage* 36(Suppl. 2), T164 – T173.
- 11) Buccino G, Gatti R, Giusti MC, Negrotti A, Rossi A, Calzetti S, Cappa SF. 2011 Action observation treatment improves autonomy in daily activities in Parkinson’s disease patients: results from a pilot study. *Mov. Disord.* 26, 1963 – 1964.
- 12) Alegre M, Rodriguez-Oroz MC, Valencia M, Guridi J, Iriarte J, Obeso JA, Artieda J. 2010 Changes in subthalamic activity during movement observation in Parkinson’s disease: is the mirror system mirrored in the basal ganglia? *Clin. Neurophysiol.* 121, 414 – 425.
- 13) Buccino G, Arisi D, Gough P, Aprile D, Ferri C, Serotti L, Tiberti A, Fazzi E. 2012 Improving

upper limb motor functions through action observation treatment: a pilot study in children with cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 54, 822– 828.

14) Bellelli G, Buccino G, Bernardini B, Padovani A, Trabucchi M. 2010 Action observation treatment improves recovery of postsurgical orthopedic patients: evidence for a top-down effect? *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 91, 1489– 1494.

15) Marangolo P, Bonifazi S, Tomaiuolo F, Craighero L, Coccia M, Altonè G, Provinciali L, Cantagallo A. 2010 Improving language without words: first evidence from aphasia. *Neuropsychologia* 48, 3824– 3833.

16) Fadiga L, Fogassi L, Pavesi G, Rizzolatti G. 1995 Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. *J. Neurophysiol.* 73, 2608– 2611.

17) Calvo-Merino B, Glaser DE, Grezes J, Passingham RE, Haggard P. 2005 Action observation and acquired motor skills: an fMRI study with expert dancers. *Cereb. Cortex* 15, 1243– 1249.

18) Iacoboni M, Woods RP, Brass M, Bekkering H, Mazziotta JC, Rizzolatti G. 1999 Cortical mechanisms of human imitation. *Science* 286, 2526 – 2528.

19) Iacoboni M, Molnar-Szakacs I, Gallese V, Buccino G, Mazziotta JC, Rizzolatti G. 2005 Grasping the intentions of others with one's own mirror neuron system. *PLoS Biol.* 3, 529– 535.

20) Antonino Errante, Giuseppe Di Cesare, Chiara Pinardi, Fabrizio Fasano, Silvia Sghedoni, Stefania Costi, Adriano Ferrari and Leonardo Fogassi. Mirror Neuron System Activation in Children With Unilateral Cerebral Palsy During Observation of Actions Performed by a Pathological Model. 2019

21) Iris C. Brunner, Jan Sture Skouen, Lars Ersland and Renate Grüner. Plasticity and Response to Action Observation: A Longitudinal fMRI Study of Potential Mirror Neurons in Patients With Subacute Stroke. *Neurorehabilitation and Neural Repair* 2014, Vol. 28(9) 874–884. 2014.

22) (Roberto Ciulla e Paolo Caffarra. “Action Observation Treatment (AOT) in pazienti con diagnosi di demenza di Alzheimer lieve: risultati di uno studio multicentrico”. 2017.

1) Practice parameter: assessment and management of persons in the persistent vegetative state. *Neurology* 1995;45:1015–1018; The minimally conscious state: Definition and diagnostic criteria *NEUROLOGY* 2002;58:349–353; The Vegetative State Guidance on diagnosis and management *ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS* 2003.

2) Unresponsive wakefulness syndrome: a new name for the vegetative state or apallic syndrome,

- Steven Laureys and the European Task Force on Disorders of Consciousness. 2010.
- 3) Joseph T. Giacino; 2004. The vegetative and minimally conscious states: Consensus-based criteria for establishing diagnosis and prognosis.
  - 4) Unresponsive wakefulness syndrome: a new name for the vegetative state or apallic syndrome, Steven Laureys and the European Task Force on Disorders of Consciousness. 2010.
  - 5) Laureys S, Owen A, Schiff N. (2004). Brain function in coma, vegetative state, and related disorders.
  - 6) Laureys S. (2005). The neural correlate of (un)awareness: lessons from the vegetative state.
  - 7) Joseph T. Giacino; 2004. The vegetative and minimally conscious states: Consensus-based criteria for establishing diagnosis and prognosis.
  - 8) Joseph T. Giacino; 2004. The vegetative and minimally conscious states: Consensus-based criteria for establishing diagnosis and prognosis.
  - 9) Joseph T. Giacino; 2004. The vegetative and minimally conscious states: Consensus-based criteria for establishing diagnosis and prognosis.
  - 10) Giacino JT, Ashwal S, Childs N, et al. The minimally conscious state: definition and diagnostic criteria. *Neurology* 2002.
  - 11) Disturbi della coscienza e grave cerebrolesione acquisita: classificazione e strumenti di valutazione. Pubblicato il: 26 settembre 2018. Francesca Fumagalli.
  - 12) Caroline Schnakers and Martin M. Monti. Disorders of consciousness after severe brain injury: therapeutic options. *Current Opinion*. 2017.
  - 13) Vanhaudenhuyse et al., 2008.
  - 14) Schiff, N. D. et al. Residual cerebral activity and behavioural fragments can remain in the persistently vegetative brain. (2002).
  - 15) Owen, A. M., Epstein, R. & Johnsrude, I. S. in *Functional Magnetic Resonance Imaging. An Introduction to Methods*. 2001.
  - 16) de Jong, B., Willemsen, A. T. & Paans, A. M. Regional cerebral blood flow changes related to affective speech presentation in persistent vegetative state. 1997.
  - 17) Menon, D. K. et al. Cortical processing in persistent vegetative state. 1998.
  - 18) Di, H. B. et al. Cerebral response to patient's own name in the vegetative and minimally

conscious states. 2007.

19)Functional neuroimaging of the vegetative state Adrian M. Owen and Martin R. Coleman. 2008.

20)Boly, M. et al. When thoughts become actions: an fMRI paradigm to study volitional brain activity in non communicative brain injured patients. 2007.

21)Owen, A. M. et al. Detecting awareness in the vegetative state. 2006. E Owen, A. M. et al. Response to Comments on “Detecting awareness in the vegetative state”. 2007.

22)Davis, M. H. et al. Dissociating speech perception and comprehension at reduced levels of awareness. 2007. E Bonebakker, A. et al. in Memory and Awareness in Anaesthesia. 1996.

23)Dehaene, S. et al. Imaging unconscious semantic priming. 1998.

24)Owen, A. M. et al. Response to Comments on “Detecting awareness in the vegetative state”. 2007.

25)Owen, A. M. et al. Detecting awareness in the vegetative state. 2006.

26)Early detection of consciousness in patients with acute severe traumatic brain injury. Brian L. Edlow et al. 2017.

27)The neural correlates of lexical processing in disorders of consciousness. Anna Nigri, Eleonora Catricalà, Stefania Ferraro, Maria Grazia Bruzzone, Ludovico D’Incerti, Davide Sattin, on behalf of CRC - Coma Research Centre members. 2016.

28)Brain Response to One’s Own Name in Vegetative State, Minimally Conscious State, and Locked in Syndrome. Fabien Perrin et al. 2006.

29)Moruzzi e Magoun. “ Brain sistem reticular formation andactivation of the EEG”. 1994. Cobb S: Foundations of neuropsychiatry. Williams and Wilkins, Baltimore, 1958.

30)Bremer F: Neurophysiological mechanisms in cerebral arousal, in the nature of sleep. A Ciba Foundation symposium, London, 30 – 56, 1961

31)Morison RN, Dempsey EN: A study of thalamo-cortical relations, in American journal of physiology”, 281 – 292, CXXXV, 1942

32)Moruzzi G, Magoun HW: Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroencephalogr Clin. Neurophysiol. I:455-473, 1949.