



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE**

**“Plasticità cerebrale e neuroni specchio: tecniche di riduzione del dolore
neuropatico dovuto ad amputazione chirurgica dell’arto”**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Leonardo Fogassi

Correlatore:

Chiar.mo Prof. Marzio Gerbella

Laureando:

Antonio Madei

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Sommario

Abstract in italiano	2
Abstract in inglese.....	3
Introduzione	4
Capitolo 1 “PLASTICITÀ CEREBRALE”	6
1.1 <i>Variazioni volumetriche della materia bianca e grigia in funzione dell’esperienza</i> ..	7
1.2 Attività ed immaginazione nella rimodulazione delle mappe somatotopiche	13
Capitolo 2 “MECCANISMI BIOMOLECOLARI ALLA BASE DELLA PLASTICITÀ NEURALE”	18
2.1 Neurotrasmettitori e canali ionici di membrana	18
2.2 Molecole AMP-cicliche e proteine PKA nella Long term potentiation	21
Capitolo 3: “SINDROME DELL’ARTO FANTASMA: UN ESEMPIO DI PLASTICITÀ CEREBRALE DISADATTIVA”	24
3.1 Definizione generale.....	24
3.2 Epidemiologia.....	25
3.3 Propriocezione dell’arto fantasma	26
3.4 L’effetto telescoping.....	31
3.5 Cause neurofisiologiche dell’arto fantasma.....	38
3.6 Implicazioni psicologiche.....	41
Capitolo 4: RIABILITAZIONE MIRROR: UNA PROSPETTIVA NEUROPSICOLOGICA	44
4.1 Definizione generale.....	44
4.2 Circuitazioni mirror	47
Neuroni specchio	47
Tipologie di neuroni specchio.....	50
Plasticità del sistema specchio	54
Plasticità del sistema mirror nella scimmia	54
Plasticità del sistema mirror nell’uomo.....	56
4.3 Tecniche di riabilitazione per pazienti con arto fantasma	59
Mirror box.....	59
Immaginazione motoria	64
Virtual Reality (VR)	69
Conclusioni.....	73
Bibliografia.....	75

Abstract in italiano

La scoperta della neuroplasticità e successivamente dei neuroni specchio ha cambiato per sempre la visione delle neuroscienze riguardo le proprietà auto-riparative del cervello. Osservare, immaginare e agire un tempo erano considerate azioni con differente impatto a livello neuronale. Oggi, invece, sappiamo che il cervello sfrutta aree neurali in parte condivise sia per agire ma anche per osservare o semplicemente per immaginare un'azione motoria. L'idea, quindi, che questo potesse essere sfruttato dal punto di vista clinico catturò subito la curiosità degli scienziati, che già dopo la scoperta dei neuroni mirror avviarono una serie di studi per cercare di capire come realizzare dei protocolli di riabilitazione motoria per pazienti con paralisi cerebrali (Ertelt et al., 2007). Successivamente, simili studi furono eseguiti anche su categorie di pazienti non affetti da nessun genere di cerebrolesione (Chan et al., 2007). Gli studi di Ramachandran and Hirstein (1998) sulla mirror box per pazienti amputati creavano infatti in un background promettente riguardo il fatto che la semplice osservazione del proprio arto sano riflesso in uno specchio potesse indurre una riorganizzazione plastica della corteccia motoria e somatosensoriale in grado di ridurre il dolore da arto fantasma. Col tempo le ricerche in questo campo si sono estese fino all'utilizzo della realtà virtuale e dell'intelligenza artificiale (Ortiz-Catalan et al., 2016; Ambron et al., 2018), delineando un quadro terapeutico per alcuni pazienti sorprendentemente efficace. Il compito di questa tesi magistrale è quindi quello di far luce, dal punto di vista metodologico e statistico, sulla possibile efficacia di queste principali tecniche riabilitative per il dolore da arto fantasma basate su una stimolazione del sistema mirror.

Abstract in inglese

The discovery of neuroplasticity and later of mirror neurons has changed forever the neuroscience view of the self-repair properties of the brain. Observing, imagining and acting were once considered actions with different neuronal impacts. Today, however, we know that the brain uses partially shared neural areas both to act but also to observe or simply to imagine a motor action. Therefore, the idea that this could be exploited from the clinical point of view immediately captured the curiosity of scientists, who, soon after the discovery of mirror neurons, started a series of studies to try to understand how to plan protocols of motor rehabilitations for patients with cerebral paralysis (Ertelt et al., 2007). Later, similar studies were also performed on categories of patients without any kind of brain injury (Chan et al., 2007). The Studies of Ramachandran and Hirstein (1998) on the mirror box for amputees established in fact a promising background about the fact that the simple observation of one's healthy limb reflected in a mirror could induce a plastic reorganization of the motor and somatosensory cortex able to reduce phantom limb pain. Over time, research in this field has extended to the use of virtual reality and artificial intelligence (Ortiz-Catalan et al., 2016; Ambron et al., 2018), outlining a surprisingly effective therapeutic framework for some patients. The task of this master's thesis is therefore to shed light, from a methodological and statistical point of view, on the possible effectiveness of these main rehabilitation techniques for phantom limb pain based on a stimulation of the mirror system.

Introduzione

Una delle peculiarità più significative delle cellule nervose è la capacità di modificare in modo plastico le proprie connessioni. Questo può avvenire, per esempio, regolando il livello di neurotrasmettitori oppure avviando addirittura delle modificazioni strutturali a livello cellulare, così da facilitare un certo tipo di comunicazione rispetto ad altre e rimodellare in modo sufficientemente stabile una determinata circuitazione nervosa. Tuttavia, se da un lato questo può apparire straordinariamente affascinante, soprattutto in un'ottica clinica, d'altro canto non deve erroneamente indurre a credere che la plasticità sia sempre in ogni caso adattiva. In realtà ci sono situazioni in cui questa condizione non lo è affatto, come nel caso di alcuni pazienti che pur non avendo più gli arti continuano a percepirla a livello sensoriale sperimentando addirittura, in taluni casi, un forte dolore neuropatico spesso non alleviabile neppure con i comuni analgesici. Una condizione clinica che nel tempo ha preso il nome di *sindrome da arto fantasma*. Ossia quella forma di dolore all'arto mancante, da qui il concetto di fantasma, che può comparire dopo un'amputazione chirurgica inficiando nel tempo anche il benessere psicologico e sociale dei soggetti stessi. Verosimilmente alla base di questa particolare sindrome vi sarebbe proprio una disadattiva forma di plasticità neurale in cui le fibre afferenti, rimaste per così dire orfane di afferenza periferica, andrebbero incontro ad un processo di riorganizzazione spontanea, spesso "allacciandosi" ad altre regioni vicine nella corteccia somatoestesica e generando così un "fantasma" ectopico dell'arto. Ad esempio, si possono evocare sensazioni termiche o dolorifiche delle dita se si stimolano alcune aree del viso (Collins et al., 2017). È chiaro come il problema sia di natura corticale più che cicatriziale, pertanto sembra ragionevole pensare che anche la terapia debba necessariamente riguardare il modo in cui questa modificazione plastica si realizza e cercare di correggerla. Tra le principali tecniche che negli anni sono state proposte per gestire il dolore, una in particolare si è voluta concentrare sulla possibile implicazione del sistema mirror, un sistema neuronale motorio scoperto la prima

volta a Parma nel macaco in una porzione della corteccia premotoria ventrale rostrale (F5 c). La peculiarità di questo sistema neuronale è sostanzialmente quella di rispondere non solo in caso di esecuzione di un atto motorio, ma anche a seguito dell'osservazione del medesimo atto (Rizzolatti et al., 1999). Quindi pur non facendo nulla il nostro cervello già semplicemente osservando un'azione si attiva come se dovesse realmente fare quell'atto. L'idea che questo sistema potesse essere sfruttato dal punto di vista riabilitativo suscitò subito l'interesse dei ricercatori già dagli inizi del 2000, ossia agli albori della scoperta dei neuroni specchio. Inizialmente gli studi riguardarono prevalentemente pazienti con cerebrolesioni acquisite, come ictus o ischemie, ma col tempo le ricerche cominciarono ad estendersi anche ad altre categorie di pazienti, come quelli affetti da morbo di Parkinson ed infine anche per i soggetti affetti da arto fantasma (Ramachandran & Rogers-Ramachandran, 2008). A partire da queste ricerche preliminari sono stati, infatti, sviluppati diversi studi con mirror box e anche sull'uso dell'immaginazione motoria (MacIver et al., 2008), delineando per questa categoria di pazienti un vero e proprio quadro terapeutico alternativo che in tempi più recenti si è addirittura esteso fino all'utilizzo di nuove tecnologie, come la VR, evidenziando peraltro risultati sorprendentemente promettenti (Ambron et al., 2018). L'obiettivo di questo elaborato è, infatti, quello di analizzare le più recenti indagini neuroscientifiche riguardo la possibile efficacia di queste nuove tecniche sperimentali nella riabilitazione dei pazienti con sindrome da arto fantasma portando gradualmente il lettore verso una piena comprensione critica dell'argomento. Nei primi capitoli che verranno proposti sarà affrontato in modo generale il tema della plasticità cerebrale e dei meccanismi biomolecolari che ne stanno alla base affinché si possa offrire un quadro abbastanza chiaro di quella proprietà neuronale che rende possibile il successo riabilitativo in neuropsicologia. Quindi dal capitolo 3 ed infine nel capitolo 4 verranno affrontati i temi della sindrome da arto fantasma, come esempio di plasticità disadattiva, e del contributo dei neuroni specchio nella riabilitazione.

Capitolo 1 “PLASTICITÀ CEREBRALE”

Grazie agli studi portati avanti negli anni da diversi autori, come Kandel and Wa (1968), Levi-Montalcini (1987), Eriksson et al. (1998) e Merzenich (2013), solo per citarne alcuni, oggi sappiamo chiaramente che il cervello non è affatto un organo “statico” come si pensava in passato, ma in costante aggiornamento. Prendiamo per esempio la memoria; quando recuperiamo un ricordo noi “riviviamo” mentalmente un evento che abbiamo vissuto in un momento passato. Tuttavia, poiché il contesto spazio-temporale in cui questa rievocazione viene messa in atto è sempre diverso, questo porta il cervello durante il recupero a creare ogni volta nuove connessioni che, se rinforzate, possono anche stabilizzarsi, deviando così nel tempo quel ricordo sempre più dall’evento reale originario (Garcia, 2018). Questa è la ragione per cui i ricordi non sono mai del tutto autentici, ma sempre di fatto influenzati da elementi contestuali presenti al momento del recupero. Tuttavia, questo “aggiornamento” del sistema nervoso non riguarda solo la memoria, ma si estende in realtà a tutti i domini cognitivi, garantendo peraltro una riorganizzazione dell’architettura neurale anche qualora questa venga compromessa da una vasculopatia o da altre forme di compromissione neurale. La scoperta della neuroplasticità ha, infatti, aperto le porte verso una nuova visione della neurologia e più in generale delle neuroscienze, gettando le fondamenta per lo sviluppo sinergico di differenti forme di riabilitazione, con un approccio nel tempo sempre più interdisciplinare. Malattie come l’ictus o anche come il Mild Cognitive Impairment (MCI) possono, pertanto, trovare oggi nella neuroplasticità una speranza terapeutica solo lontanamente ipotizzabile in passato. È ormai ben documentato in letteratura come non tutti i pazienti con diagnosi di MCI evolvono in demenza (Gauthier et al., 2006). Esiste, infatti, una percentuale di soggetti che pur avendo avuto una diagnosi precoce di decadimento cognitivo lieve, non solo non evolvono all’ultimo stadio della malattia, ma addirittura regrediscono fino all’azzeramento totale dei sintomi e questo è indubbiamente merito della straordinaria capacità plastica del tessuto nervoso e di come questa

sia strettamente dipendente dall'esperienza, ossia dal modo in cui un individuo reagisce in un dato ambiente per un certo periodo di tempo.

1.1 *Variazioni volumetriche della materia bianca e grigia in funzione dell'esperienza*

A partire dagli anni Sessanta sono stati condotti una serie di studi approfonditi per capire se questa particolare proprietà cellulare dei neuroni potesse essere in un qualche modo favorita da un certo tipo di esperienze rispetto ad altre (Krech et. al 1960; Rosenzweig, 1966, Rosenzweig e Bennett, 1969; Diamond et al., 1972; Rosenzweig et al., 1972). Ebbene, ciò che emerse da questi studi è che, complessivamente, il peso cerebrale di ratti esposti per un mese ad un ambiente stimolante, sia dal punto di vista fisico che

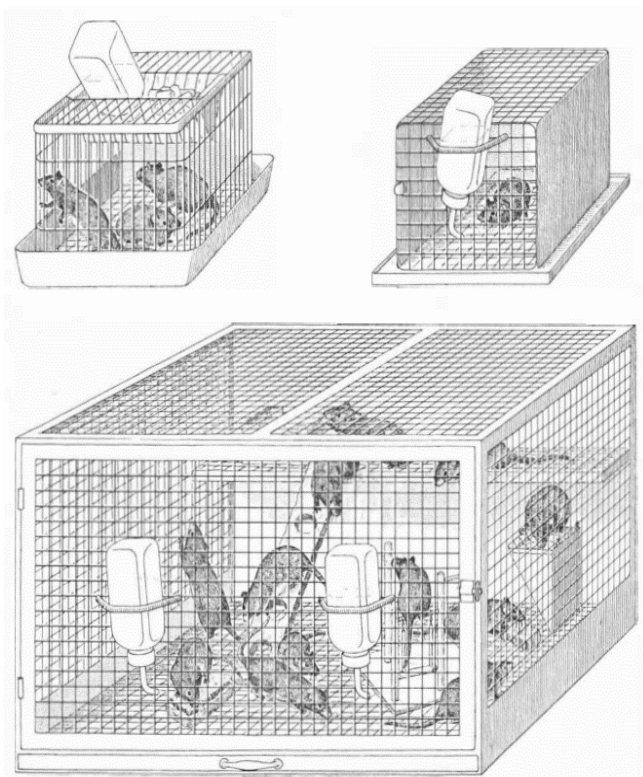


Figura 1. Ratti nelle tre condizioni; in alto a sinistra la condizione standard; in alto a destra la condizione impoverita e in basso la condizione arricchita (Rosenzweig et al., 1972).

dal punto di vista cognitivo e sociale, aumentava in modo statisticamente significativo rispetto al cervello di altri ratti messi, invece, in una condizione di impoverimento. Più nello specifico, il protocollo sperimentale applicato dai ricercatori, più volte replicato con successo nel corso degli anni, prevedeva essenzialmente 3 condizioni (Figura1), da applicare a dei ratti provenienti tutti da un'unica cucciolata, così da poter controllare logicamente la possibile variabilità genetica. Come si può vedere in Figura1 le condizioni riguardavano:

1. Un ambiente standard in cui venivano inseriti 3 ratti senza nessun genere di stimolo, eccetto il fatto che potevano socializzare tra loro.

2. Un ambiente impoverito caratterizzato da una gabbietta priva di stimoli, esattamente come per la condizione standard, ma in cui veniva però eliminata la variabile sociale; ossia veniva inserito nella gabbietta solo un ratto.
3. Un ambiente arricchito caratterizzato, invece, da una gabbia molto più grande e ricca di stimoli fisici e cognitivi, in cui venivano inseriti 12 ratti.

Le indagini istologiche, applicate post-mortem attraverso una particolare analisi dell'acetilcolinesterasi, hanno rivelato che nel cervello dei ratti messi nella condizione arricchita, si era verificato un incremento notevole dell'attività neuronale rispetto al ratto lasciato da solo (Rosenzweig, 1966). Tuttavia, le modificazioni riscontrate non si limitavano all'aspetto puramente biomolecolare. Le successive indagini al microscopio hanno, infatti, mostrato solo per i ratti della condizione arricchita un ingrandimento dei corpi e dei nuclei cellulari dei neuroni (Rosenzweig et al., 1972), così come una maggiore arborizzazione dendritica ed un aumento generale delle sinapsi e della volumetria corticale (West & Greenough, 1972; Globus et al., 1973), confermando quindi una modifica non soltanto di natura chimica ma anche e soprattutto strutturale. Tuttavia, l'aspetto più interessante che emerge da tutti questi studi è che non soltanto il “fare qualcosa” è in grado di creare un cambiamento a livello neuronale, ma anche il “non fare niente” e questo dal punto di vista clinico è di fondamentale importanza perché dimostra come il cervello funzioni con un principio di economia metabolica, tale per cui ciò che non viene utilizzato col tempo viene progressivamente ridotto di volume, a maggior ragione se questa “inattività” è vissuta come stressante o è quanto meno accompagnata da situazioni stressanti come l'isolamento. Lo studio di Lieberwirth et al. (2012) ha, infatti, enfatizzato come lo stress dovuto ad un lungo periodo di solitudine possa esercitare una pressione altamente tossica a livello neurobiologico, provocando di fatto una mera atrofia neuronale con conseguenze chiaramente deleterie dal punto di vista cognitivo. In particolare, il gruppo di Lieberwirth si è voluto concentrare sull'effetto cerebrale

dell'isolamento sociale cronico nell'età adulta, prendendo come modello animale le arvicole della prateria che, come è ormai noto, sono una specie di arvicole molto sociali e, come sottolinea Stowe et al. (2005), questo di fatto non fa che amplificare la suscettibilità allo stress da isolamento, ragion per cui nello studio di Lieberwirth si è scelto proprio questo particolare modello animale. In sostanza, l'esperimento consisteva nell'assegnare casualmente le arvicole ad uno dei due gruppi di trattamento:

- Gruppo di controllo (l'arvicola rimaneva col proprio compagno di gabbia)
- Gruppo sperimentale o anche detto di "isolamento" (dove un'arvicola rimaneva da sola).

L'assegnazione aleatoria al gruppo è stata fatta dopo l'ultima iniezione di 5-bromo-2'-deossiuridina (BrdU), un marcatore di divisione cellulare, seguendo un delicato paradigma di somministrazione al fine di evitare che l'animale subisse un effetto neurotossico da parte della sostanza (Lieberwirth et al., 2012). Quindi, dopo sei settimane, le arvicole sono state tutte sacrificate e i ricercatori hanno, quindi, proceduto alla sezione dei loro cervelli elaborando 4 serie di sezioni cerebrali:

1. Una per valutare la sopravvivenza cellulare, sfruttando l'anticorpo anti-BrdU e la colorazione con diaminobenzidina (DAB);
2. Una per valutare il livello di proliferazione cellulare utilizzando l'anticorpo anti-Ki67 di coniglio e la colorazione con diaminobenzidina (DAB);
3. Una per valutare la differenziazione neuronale con incubazione in anticorpi anti-BrdU di ratto e anti-NeuN di topo;
4. Una per valutare la morte cellulare ricorrendo alla deossinucleotidil transferasi terminale dUTP nick end labeling (TUNEL).

L'analisi dei dati ha rivelato che l'isolamento sociale è stato effettivamente in grado, da solo, di diminuire la sopravvivenza dei neuroni di alcune aree cerebrali di quasi 27 volte ($F_{1,64} =$

26,84) e tale effetto non è risultato essere dovuto al caso ($p < 0,001$), come si può chiaramente vedere dal p-value che rimane ampiamente inferiore alla soglia alpha di riferimento (0.05). Nella fattispecie, sfruttando le differenti indagini immunohistochimiche, si è potuto registrare complessivamente una ridotta proliferazione, sopravvivenza e differenziazione dei neuroni, con un'evidente alterazione della morte cellulare, in particolare, nelle regioni del giro dentato dell'ippocampo (DG) e dei nuclei basolaterale, centrale e mediale dell'amigdala (AMY). Queste alterazioni erano, quindi, diverse a seconda della regione cerebrale interessata. Infatti, la regione preottica mediale (MPOA), presentava alla colorazione con DEB (diaminobenzidina) dopo incubazione delle sezioni in anticorpo Ki67, una ridotta proliferazione cellulare. Tuttavia, questa riduzione della proliferazione neurale non era presente nei nuclei dell'amigdala e neppure nella regione ventromediale dell'ipotalamo (VMH) che invece presentava, all'immunoreattività di Bdr, una riduzione significativa della sopravvivenza dei rispettivi neuroni (Lieberwirth et al., 2012). Si può quindi affermare che lo stress, in questo caso dovuto all'isolamento, ha la capacità di modificare concretamente e in modo anche pervasivo il sistema nervoso centrale e ciò dimostra, quindi, che la plasticità non è necessariamente un fattore adattivo. Essa può, infatti, agire anche come un fattore di rischio per severe condizioni cliniche e minare la sopravvivenza stessa di un organismo. In realtà, degli studi simili, con risultati analoghi altrettanto importanti dal punto di vista psicobiologico, erano già stati portati avanti negli anni 90 da Sapolsky (1990) con uno studio sui Babuini e, sei anni dopo, da Magarinos et al. (1996) con un'indagine sui toporagni. Come si può vedere, anche in queste prime indagini, l'analisi dei dati mostra in modo inequivocabile un significativo effetto dello stress nell'alterare le cellule del cervello, causando nello specifico una significativa atrofia ippocampale, con una copiosa riduzione della lunghezza e delle ramificazioni dendritiche. Di particolare rilievo negli studi portati avanti da Sapolsky è, inoltre, il fatto che l'autopsia dei primati, sottoposti per un lungo periodo ad un'esperienza di sottomissione a dei maschi dominanti, evidenziò, oltre che

una copiosa degenerazione ippocampale, anche delle conseguenze clinicamente evidenti a livello dello stomaco (Feldman, 2017). Lo stomaco è infatti intrinsecamente collegato al cervello tramite il nervo vago e proprio nelle pareti dello stomaco furono rinvenute diverse lacerazioni della mucosa gastrica. Lo studio però forse più affascinante da tenere in considerazione quando si parla di plasticità neurale indotta dall'esperienza, è senza dubbio il caso della scimmia Helen e della sua incredibile capacità acquisita di riuscire a "vedere" il mondo dopo una totale ablazione chirurgica della corteccia visiva primaria (V1). Il caso risale alla fine degli anni 60 quando due neuroscienziati dell'Università di Cambridge, Humphrey and Weiskrantz, decisero di indagare gli effetti di un danno irreversibile alla corteccia visiva primaria sul comportamento di un primate non affetto da cecità congenita (Humphrey & Weiskrantz, 1967), asportando chirurgicamente in modo bilaterale V1 di una scimmia reso adolescente, chiamata Helen. Inizialmente, tutto sembrava coerente con un normalissimo quadro clinico di un soggetto con cecità corticale. Tuttavia, nel corso delle sperimentazioni le cose cominciarono a poco a poco a diventare piuttosto atipiche per un esemplare completamente deprivato di un'area neurale così delicata per la percezione visiva (Humphrey & Weiskrantz, 1967). La cosa che sorprese i due ricercatori di Cambridge è che il primate spesso tendeva muovere la testa e gli occhi in direzione di un oggetto in movimento. Col tempo questa sensibilità aumentò al punto da rendere difficile agli stessi scienziati lo studio sperimentale, in quanto la scimmia riusciva a percepire persino il minimo spostamento degli oggetti (Humphrey & Weiskrantz, 1967). Inoltre, se venivano lasciati su un'area dei pezzetti di cioccolato lei era in grado non solo di intercettarli, ma addirittura di afferrarli e portarli alla bocca per mangiarli, evitando anche ostacoli di varia natura. Una situazione per certi versi incredibile, che spinse gli stessi ricercatori a ipotizzare che forse fosse andato storto qualcosa durante l'intervento chirurgico. Questo aspetto fu preso molto seriamente, al punto che nel 1974 (alla morte di Helen), il Dr. Humphrey decise di approfondire il caso eseguendo un'autopsia sul cadavere di

Helen che, tuttavia, non fece che confermare la completa asportazione di V1 (Humphrey, 1974), aprendo dunque le porte ad ulteriori indagini come quelle che seguirono negli anni successivi (Jeannerod, 1981; De Gelder et al., 2008; Whishaw et al., 2016). Alla base di questo straordinario recupero vi sarebbe proprio un fenomeno plastico di rafforzamento della circuitazione cortico-sottocorticale del sistema visivo, indotto proprio dall'esperienza. In altre parole, il sistema corticale visivo rimasto integro sarebbe stato indotto dalla deprivazione nervosa ad intensificare le proprie connessioni col sistema visivo sottocorticale, rendo possibile così la percezione visiva anche senza le complesse reti neuronali di V1. Ora, se ci pensiamo, il fenomeno che avviene in situazioni come questa è in sostanza ciò che naturalmente avviene nel processo di competizione neuronale, in cui solo una coppia di fibre prende il sopravvento nella trasmissione di informazioni a seguito di una data condizione esperienziale. Per esempio, le bande di dominanza oculare del sistema visivo si originano proprio grazie ad un meccanismo di competizione di questo tipo. Ciò è empiricamente rilevabile quando sperimentalmente si fa subentrare una condizione di deprivazione monoculare per un certo periodo di tempo a dei cuccioli appena nati, come esplicitato per la prima volta da David Hubel e Torsten Wiesel con uno studio sui gatti che valse ad entrambe il premio Nobel per la medicina (Hubel & Wiesel, 2012). Tuttavia, ciò che emerge da tutte queste situazioni di competizione, e che è importante sottolineare, è che il punto focale è sempre e in ogni caso l'attività nervosa. Quindi, sì ciò che si vede è indubbiamente la formazione o la diminuzione di nuovi contatti sinaptici, però non è semplicemente una questione anatomica; affinché, infatti, una rete neuronale si ampli, ossia cresca in termini di circuitazioni nervose, è necessario infatti che il contatto sia attivo, perché è l'attività e, dunque, il mantenersi nel tempo di una data condizione, che di fatto rinforza il trofismo, la crescita, del terminale presinaptico. Dunque, come si può capire la plasticità non è qualcosa di avulsa dall'esperienza; il tipo e l'intensità di un'esperienza esercita realmente un

ruolo nodale sulla plasticità cerebrale, influenzando la neurogenesi, la sopravvivenza neuronale così come lo stato delle funzioni cognitive (Lieberwirth et al., 2012).

1.2 Attività ed immaginazione nella rimodulazione delle mappe somatotopiche

Gli studi finora presentati hanno creato un quadro piuttosto esaustivo della relazione tra esperienza e neuroplasticità. Tuttavia, ciò che oggi sappiamo davvero di questa peculiare proprietà cerebrale lo dobbiamo anche e soprattutto ad altri tipi di studi di carattere neurofisiologico che, più di tutti, hanno mostrato come il cervello possa non soltanto cambiare ma addirittura “ripristinare” la propria architettura. Studiando le rappresentazioni somatotopiche dei primati non umani e, successivamente, anche dell’uomo, si è visto chiaramente che queste mappe non sono definitive, ma possono essere modificate appunto plasticamente da fenomeni di

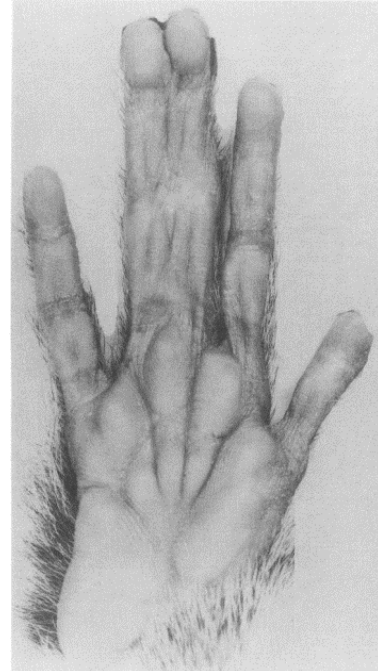


Figura 2. Mano di un primate non umano dopo la suturazione chirurgica del terzo e del quarto dito. (Allard et al., 1991).

apprendimento. Quindi, per esempio, se ci troviamo in una condizione come quella palesata in Figura 2, in cui le dita di una mano (in quel caso di una scimmia) vengono suturate insieme chirurgicamente e si fa passare del tempo, quando poi si va a ricontrollare lo stato delle mappe motorie corticali si può vedere come nella mappa subentra una cospicua area di sovrapposizione (Clark et al., 1988; Allard et al., 1991; Buonomano & Merzenich, 1998). Cioè, la separazione netta che inizialmente c’era tra le due dita (il terzo e il quarto) poi suturate chirurgicamente comincia, dopo un certo periodo di tempo, a diventare una zona corticale comune e questo vuol dire che per il cervello è come se venissero considerate come un unico dito (Buonomano & Merzenich, 1998). Tuttavia, se noi sottoponessimo la scimmia ad un’ulteriore operazione, questa volta per separare chirurgicamente le dita precedentemente suturate assieme, noteremmo

come dopo un po' di tempo il bordo ricompaia all'interno della mappa corticale. Quindi, questo ci fa capire che queste mappe sono anche reversibili, e questo è molto importante in un'ottica riabilitativa, perché altrimenti non vi sarebbe alcuna possibilità di recuperare delle funzioni compromesse dal punto di vista neurologico. Per quanto riguarda invece lo studio sugli esseri umani, di lungimirante importanza è lo studio condotto da Pascual-Leone et al. (1995). Lo studio consisteva in due fasi: la prima fase prevedeva di istruire dei soggetti sani a svolgere, con le cinque dita, delle sequenze motorie sopra una tastiera di pianoforte, seguendo un ritmo dato da un metronomo di circa 60 battute al minuto. Logicamente erano presenti, oltre al gruppo sperimentale, due diversi gruppi di controllo, per verificare i possibili cambiamenti plastici a livello corticale. Nella fattispecie i due gruppi di controllo erano composti da:

- Soggetti sani che svolgevano delle sequenze casuali/spontanee sulla tastiera, senza cioè seguire nessun ritmo;
- Soggetti sani che, invece, non svolgevano nessun genere di attività;

L'esperimento doveva essere ripetuto per cinque giorni con un training di circa due ore al giorno. Ebbene, ciò che emerse dall'esperimento è che al 5° giorno la riproduzione da parte del gruppo sperimentale era pressoché perfetta, con un livello di errore sostanzialmente pari a 0.

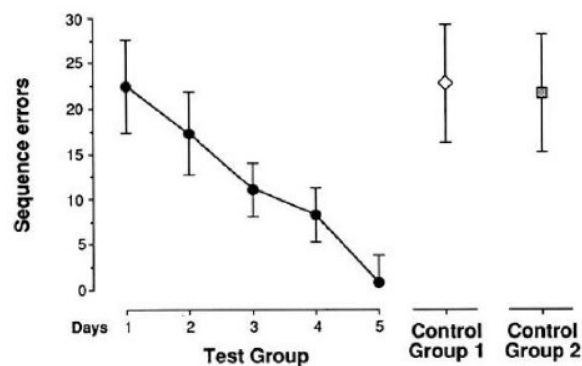


Figura 3: GRAFICO DEGLI ERRORI. Guardando gli errori sul grafico relativi al gruppo sperimentale (Test Group) si può vedere come la linea, passando dal giorno 1 al giorno 5, scende praticamente a 0. Gli errori nei due gruppi di controllo, invece, rimangono inalterati durante tutto il periodo dell'esperimento (Pascual-Leone et al., 1995).

Dal punto di vista prettamente comportamentale questo dimostra l'avvenuto consolidamento dell' apprendimento e, come in tutti gli esperimenti che comportano un apprendimento, se si desidera poi andare a studiare nel dettaglio quale sia l'effettiva controparte cerebrale implicata nel processo, diventa necessario utilizzare una metodica specifica che sia realmente adatta a rivelare l'effetto plastico sottostante. In questo studio, in particolare, è stata utilizzata la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS), che attraverso l'emissione di un campo magnetico a livello dello scalpo è in grado di alterare lo stato di eccitazione corticale. Nella fattispecie il ruolo di questa tecnica neurofisiologica è che, se il training funziona (e quindi è in grado di creare un apprendimento) allora dando un impulso magnetico, con un'intensità soglia, sulla porzione di scalpo correlata alla mappa motoria delle dita della mano implicate nel training, si dovrebbe creare una facilitazione traducibile in un aumento della risposta elettromiografica per quelle dita specifiche. Inoltre, se questo aumento risulta essere esteso anche a zone della mappa che precedentemente non riguardavano quelle dita in particolare, allora ciò significa che è avvenuta una concreta modificazione plastica della mappa motoria. Cioè, se il movimento del dito si manifesta anche posizionando una parte del magnete su settori corticali che prima non determinavano quel movimento, è chiaro che deve per forza essere subentrato un fenomeno plastico, che ha di fatto esteso i confini di quella particolare porzione della mappa motoria. Ebbene, ciò che emerge da questa prima parte dello studio è che effettivamente il training di soli cinque giorni proposto dagli sperimentatori era in grado di modificare plasticamente la somatotopia della corteccia motoria dei soggetti. Nella fattispecie, le aree motorie correlate ai muscoli estensori e flessori delle dita implicate nel training, presentavano un'ampiezza significativamente maggiore rispetto alla condizione di partenza e rispetto, chiaramente, ai due differenti gruppi di controllo (Pascual-Leone et al., 1995). Per quanto concerne, invece, la seconda parte dell'esperimento i gruppi selezionati erano sempre tre ma questa volta ad uno gruppo era chiesto semplicemente di immaginare la sequenza

motoria sulla tastiera. Cioè, in altre parole, i soggetti non dovevano agire fisicamente ma immaginare di farlo, prestando però particolare attenzione alle sequenze mentali di quell'azione specifica, come se realmente la stessero facendo. Un altro gruppo doveva, invece, eseguire realmente l'azione come nell'esperimento precedente ed infine un ultimo gruppo non doveva fare nulla.

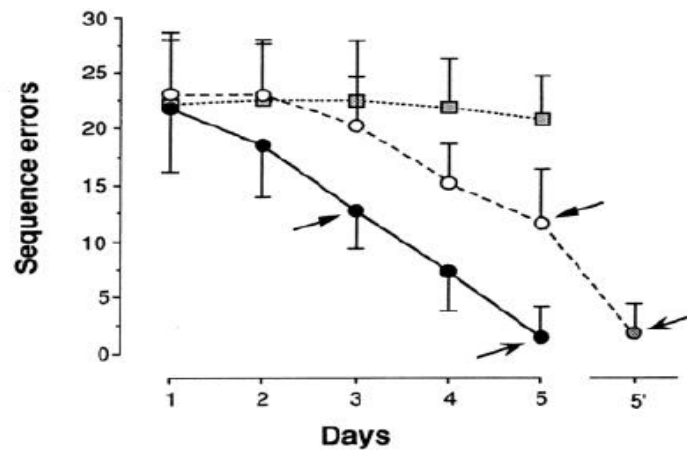


Figura 4. SEQUENZA DEGLI ERRORI ESPERIMENTO 2: rispettivamente la linea nera rappresenta i soggetti che hanno svolto esercizio fisico, quella tratteggiata simboleggia i soggetti che hanno praticato l'esercizio mentale e quella puntinata che rappresenta il controllo. Rispetto ai due gruppi sperimentali (linea nera e linea tratteggiata) solo il gruppo di controllo (linea puntinata) ha un mantenimento quasi costante degli errori lungo i 5 giorni. Questo dimostra come anche l'immaginazione mentale, oltre alla pratica fisica, è in grado di esercitare un effetto plastico legato all'apprendimento (Pascual-Leone et al., 1995).

Ciò che emerse da questa seconda parte dello studio fu davvero spettacolare, come peraltro dimostrato dal grafico (Figura 4). Infatti, seguendo le tre linee del grafico, si può chiaramente vedere come nei soggetti di controllo gli errori rimangono pressoché invariati dal 1° al 5° giorno. Invece, nei soggetti sottoposti ad esercizio fisico si può notare un calo degli errori lungo i 5 giorni quasi fino a 0, ma la cosa davvero sorprendente è che anche nei soggetti sottoposti ad esercizio mentale c'è una concreta e significativa diminuzione degli errori lungo i giorni. Immaginare ed agire, dunque, condividono la medesima forza di influenza a livello cerebrale, inducendo in entrambe i casi delle variazioni concretamente significative nella volumetria corticale. Se, infatti, si osserva l'evoluzione delle mappe corticali nei soli due gruppi

sperimentali, si può notare chiaramente come anche negli individui che hanno fatto pratica mentale c'è un significativo allargamento delle mappe motorie. Questi dati, quindi, ci danno un'eminente e preziosa conferma del fatto che in pazienti con problemi motori si possa sfruttare anche una riabilitazione basata sull'immaginazione mentale, laddove magari un esercizio fisico non risulti in alcun modo possibile a seguito di particolari complicanze cliniche.

Capitolo 2 “MECCANISMI BIOMOLECOLARI ALLA BASE DELLA PLASTICITÀ NEURALE”

Nel nostro cervello la comunicazione nervosa avviene attraverso una regolazione ionica o, più precisamente, attraverso una regolazione di molecole legate a particolari canali ionici. Questa regolazione permette, infatti, all'interno della membrana cellulare delle modificazioni tali da indurre la cellula stessa ad attivarsi o inibirsi, regolando così la trasmissione informativa di un messaggio neurale (Feldman, 2017). È, tuttavia, sulla base dell'intensità e della frequenza con cui questo passaggio di ioni si manifesta che, a livello biomolecolare, si innesca il “motore” della plasticità cerebrale. Infatti, se tale aumento o diminuzione di ioni è costante nel tempo, cioè segue una certa costanza temporale, la modulazione biomolecolare non sarà più solo a carico delle molecole a ridosso della membrana plasmatica, ma di fatto si estenderà per mezzo di secondi messaggeri anche nel nucleo, ossia al DNA stesso della cellula, inducendo l'attivazione di geni specifici affinché alcune proteine, come il BDNF, possano essere trascritte in mRNA e liberate nel citoplasma. Questo farà sì che i neuroni e le sinapsi stesse possano modificarsi in piena coerenza al tipo di attività a cui di fatto sono stati esposti per un dato periodo temporale (Purves et al., 2004).

2.1 Neurotrasmettitori e canali ionici di membrana

Come già accennato, i messaggi nel cervello viaggiano in forma elettrica ma, come messo in evidenza Ramón y Cajal, la quasi totalità delle cellule nervose non sono collegate morfologicamente, ma separate da uno spazio ben definito detto spazio sinaptico. Dunque, questo comporta la necessità che da una parte il messaggio venga spostato all'interno del neurone in forma elettrica, ma d'altra parte che lo spostamento da una cellula all'altra debba necessariamente avvenire attraverso un sistema di trasmissione “wireless”, per così dire, ossia attraverso l'ausilio di particolari messaggeri chimici in grado di “sganciarsi” dal primo neurone

ed “agganciarsi” ai rispettivi recettori presenti sul neurone ricevente, inibendo o continuando così la comunicazione in forma elettrica nell’altra cellula coerentemente al tipo di neurotrasmettitore liberato con maggior intensità. Infatti, le ramificazioni dendritiche di un neurone non ricevono mai un solo tipo di messaggio (eccitatorio o inibitorio), ma ricevono invece sempre in modo simultaneo sia molecole eccitatorie, in grado cioè di elicitare una depolarizzazione nella membrana cellulare del neurone post-sinaptico, sia molecole inibitorie in grado di impedire o ridurre il potenziale di scarica nella cellula ricevente aumentandone la polarizzazione. Pertanto, ciò che avviene è una sorta di “battaglia del più forte”, dove la concentrazione maggiore di una certa categoria di neurotrasmettitore vince sull’altra (Feldman, 2017). Sulla base di questo, l’attivazione di un neurone sarà così data non dalla semplice presenza di neurotrasmettitori eccitatori, ma da una concentrazione nello spazio sinaptico di molecole eccitatorie maggiore rispetto alla concentrazione di molecole inibitorie (Feldman, 2017). Tuttavia, per comprendere il funzionamento dei neurotrasmettitori occorre soffermarsi ancora una volta sull’importanza degli scambi ionici, in particolare per ciò che concerne l’ingresso degli ioni Ca^{2+} e del loro contributo nella trasmissione del segnale. I neurotrasmettitori, infatti, sono sintetizzati nella porzione più caudale del neurone e immagazzinati all’interno di speciali involucri detti vescicole sinaptiche. Tali vescicole per essere sciolte necessitano l’ingresso di particolari gruppi di atomi di calcio con polarità positiva. Una condizione che nel neurone presinaptico si verifica quando la corrente elettrica, dal soma si propaga lungo l’assone stimolando chimicamente l’apertura dei canali del calcio situati proprio sulla membrana assonale del neurone. L’ingresso di questi ioni fa quindi sciogliere le vescicole sinaptiche per esocitosi con la membrana plasmatica presinaptica, liberando così i neurotrasmettitori verso i rispettivi recettori presenti sulla membrana cellulare post-sinaptica. Ciò permetterà, dunque, alla cellula di regolare l’ingresso di ioni positivi o negativi e, quindi, l’attivazione o l’inibizione della cellula ricevente. È evidente come il passaggio, lo switch, tra

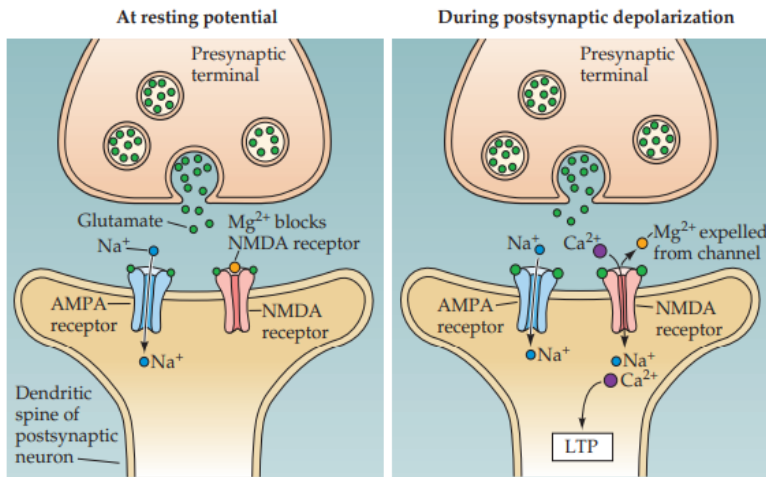


Figura 5: in alto a sinistra la sinapsi mostra un ingresso di ioni sodio limitato tramite il canale AMPA e pertanto non sufficiente a rimuovere il blocco di magnesio sul canale NMDA, che normalmente si instaura oltre un certo voltaggio per limitare la depolarizzazione e favorire così uno stato di potenziale a riposo. A destra, invece, si può vedere come l'afflusso massivo di ioni sodio provoca la rimozione della barriera di magnesio, che viene espulsa fuori dal canale, facendo così entrare liberamente, e in grandi quantità, ioni calcio responsabili delle cascate biomolecolari alla base dell'LTP (Purves et al., 2004).

una comunicazione cablata (elettrica) ad una comunicazione “wireless” (chimica) è quindi mediata dalla regolazione di specifici canali di membrana, ossia delle particolari proteine canale in grado di modificare il proprio diaframma con l'esterno in base a determinate pressioni chimico-fisiche (in questo caso

il passaggio, o meglio la propagazione, del potenziale d'azione lungo l'assone) e consentire, quindi, una mera regolazione ionica all'interno della membrana cellulare stessa. Dunque, i neurotrasmettitori non sono il vero algoritmo della comunicazione neurale, ma parte di essa; parte cioè di un algoritmo comunicativo molto più grande. Ciò che attiva i neurotrasmettitori è la capacità regolatoria dei canali ionici presenti sulla membrana plasmatica presinaptica e anche quando poi vengono, di fatto, liberati nello spazio sinaptico il loro vero “potere” risiede nell'effettiva capacità di regolare in senso attivazionale o inibitorio i canali ionici di quella particolare cellula target, propagandone o bloccandone la comunicazione. Il vero motore del cambiamento è, dunque, la regolazione di quelle proteine che stanno alla base della regolazione del voltaggio cellulare ed è su questo che i neurotrasmettitori esplicano la loro vera funzione comunicativa. Agendo su quelle proteine è quindi possibile modulare e trasformare la comunicazione nel breve e nel lungo periodo, instaurando cioè le fondamenta per un'effettiva neuroplasticità. Ad esempio, nella membrana cellulare post-sinaptica si possono trovare diverse proteine canale di sofisticata importanza comunicativa, come i canali NMDA del glutammato

e i canali AMPA che sono fortemente permeabili al sodio. Ebbene, quello che per esempio si osserva con un'eccessiva e costante stimolazione dei canali AMPA da parte del glutammato non è semplicemente un ingresso massivo di ioni sodio, ma anche una concreta modificazione funzionale a livello del canale NMDA, agendo di fatto sulla barriera di magnesio che normalmente limita oltre un certo voltaggio l'ingresso ionico per quel canale (Purves et al., 2004). Ciò porta, quindi, ad un ingresso massivo anche di ioni positivi di calcio, che normalmente non avverrebbe, rendendo possibile così l'attivazione biochimica di una serie di importanti chinasi cruciali dal punto di vista neuroplastico (Purves et al., 2004). Dunque, il neurotrasmettitore (glutammato) in questo caso non agisce semplicemente in senso attivazionale, dilatando il canale AMPA e facilitando l'ingresso di ioni sodio, ma se espresso in grandi in grandi quantità va addirittura ad influenzare indirettamente la permeabilità di altre proteine canale presenti sulla membrana, come il canale NMDA, ed è proprio questa "forzatura" del canale NMDA del glutammato a migliorare la comunicazione neuronale, innescando la plasticità.

2.2 Molecole AMP-cicliche e proteine PKA nella Long term potentiation

Il Ca^{2+} una volta liberato in grandi quantità nella membrana cellulare post-sinaptica oltre ad attivare le chinasi Ca-dipendenti (CaMKII e PKC), in grado a loro volta di promuovere la conduttanza del canale AMPA e facilitare quindi la comunicazione neuronale, anche grazie alla creazione di nuovi recettori AMPA sulla membrana plasmatica, amplifica anche il livello totale di cAMP intracellulare (Purves et al., 2004). Le molecole cAMP anche dette AMP-cicliche sono dei metaboliti cellulari sintetizzati da uno speciale enzima a partire dalle molecole di ATP. L'importanza strategica di tali molecole sta nel fatto che riescono ad interagire molto bene con diverse proteine, attivando nella fattispecie le proteinchinasi A (PKA), le quali svolgono un ruolo molto importante nella ristrutturazione neuronale (Purves et al., 2004). Ciò avviene grazie

alla fosforilazione del fattore di trascrizione CREB1 a livello del nucleo cellulare. Le PKA, infatti, hanno la capacità biomolecolare di attraversare il nucleo della cellula e passare così dalla membrana plasmatica, dove agiscono per lo più fosforilando i canali del potassio, alla membrana nucleare. Una volta attivato, dunque, questo speciale fattore di trascrizione genica, solo i geni con sequenza nucleotidica cAMP sul gruppo promotore verranno intercettati per la trascrizione in formato mRNA e tra i principali bersagli di trascrizione genica di CREB1 vi sono proprio quei geni (come il BDNF) che codificano per importanti neurotrofine in grado di modificare la morfologia delle sinapsi e dei neuroni stessi, garantendo così il passaggio da un

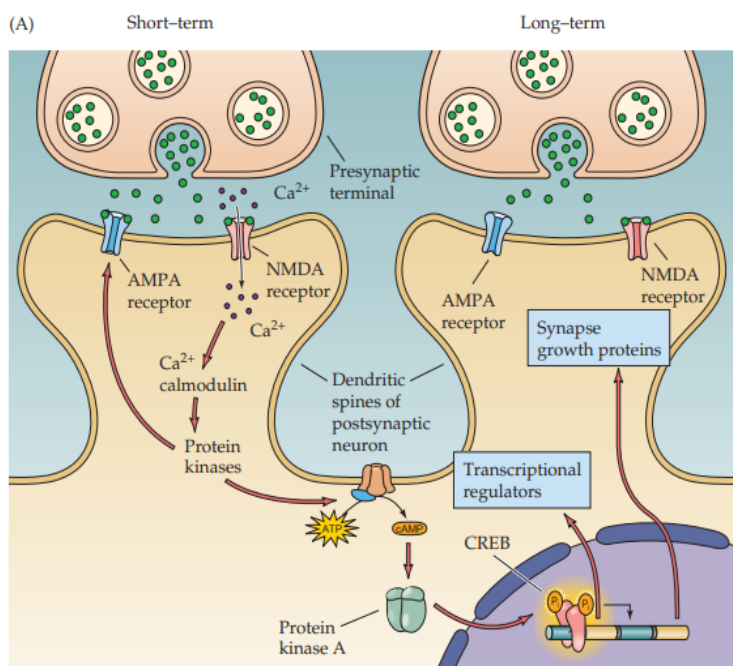


Figura 6: Rappresentazione semplificata del passaggio tra un apprendimento a breve termine (immagine in alto a sinistra) ad un apprendimento a lungo termine con costante rimozione del blocco di magnesio sul canale NMDA ed ingresso maggiore di calcio (immagine in alto a destra). Ciò provoca una serie di reazioni a cascata che portano l'adenilato ciclici a trasformare l'ATP in molecole AMP-cicliche o cAMP, le quali vanno quindi ad attivare le PKA che passando per i pori nucleari fosforilano CREB1 rendendo così possibile l'attivazione genica dei fattori neurotrofici come il BDNF per la crescita delle spine dendritiche. (Purves et al., 2004).

apprendimento a breve termine ad un apprendimento a lungo termine (Fenomeno di LTP: Long term potentiation). Cioè, in altre parole, la liberazione delle PKA fa sì che solo alcuni geni possano essere trascritti in mRNA e questi geni “prescelti” sono proprio quelli che dal punto di vista neurobiologico contribuiscono essenzialmente alla crescita e alla modificazione dei neuroni. Questa specifica modalità di coinvolgimento delle molecole cAMP non è però la sola

modalità che dal punto di vista neurobiologico si può verificare nell'attivazione di un meccanismo plastico. Esiste, infatti, una stimolazione di molecole AMP cicliche che anziché passare direttamente per la via glutammatergica, e dunque per i processi biomolecolari indotti

dalla concentrazione di ioni calcio, sfrutta invece la via serotoninergica ossia il legame tra la serotonina prodotta dagli interneuroni facilitanti e l'enzima adenilato ciclastasi posto sulla superficie dei neuroni sensoriali presinaptici. Lo studio sull'*Aplysia* di Kandel (2001) ha infatti evidenziato come una stimolazione dolorosa a livello della coda ripetuta nel tempo e seguita da una stimolazione tattile sul sifone provoca nell'animale una facilitazione della ritrazione della branchia anche se solamente sfiorato sulla testa o sulla cute del sifone. Un incremento significativo relativo alla durata e all'intensità del comando motorio di retrazione branchiale, che chiaramente delinea una modificazione relativamente stabile del collegamento tra i neuroni sensoriali, gli interneuroni facilitatori e, logicamente, i motoneuroni connessi al movimento della branchia. Indagando a fondo i meccanismi biomolecolari di questo processo i ricercatori si sono accorti che in effetti ciò che consente questo comportamento di apprendimento e generalizzazione è effettivamente una concreta modificazione plastica delle sinapsi e dei neuroni, il cui innesco però è rappresentato essenzialmente dalla liberazione di serotonina in grandi quantità su alcuni particolari recettori metabotropici, ossia accoppiati a proteine G. Un processo di rimodulazione nervosa che parte, dunque, dalla facilitazione serotoninergica degli interneuroni e a seconda di quanta serotonina viene immessa sulla superficie dei neuroni sensoriali presinaptici, e dunque a seconda di quanto intensa e frequente è la stimolazione dolorosa recepita dall'animale, il livello di PKA attivate dalle molecole cAMP sarà chiaramente più o meno significativo per un'effettiva modificazione plastica dei neuroni coinvolti. Dunque, in un caso avremo una semplice fosforilazione dei canali del potassio, con un prolungamento del potenziale d'azione ed un aumento della sensibilità all'eccitazione presinaptica (facilitazione a breve termine), mentre nell'altro anche una fosforilazione del fattore di trascrizione CREB1 con conseguenti effetti neurotrofici (facilitazione a lungo termine).

Capitolo 3: “SINDROME DELL’ARTO FANTASMA: UN ESEMPIO DI PLASTICITÀ CEREBRALE DISADATTIVA”

3.1 Definizione generale

È ormai ben documentato in letteratura medica come l’amputazione chirurgica di un arto evochi una “riprogrammazione” fisiologica di buona parte del sistema nervoso, in particolare, da parte della corteccia cerebrale somestesica, che è estremamente importante nella percezione somatosensoriale non solo degli arti ma di tutto il corpo (Lenggenhager et al., 2014; Stankevicius et al., 2020). È verosimile, pertanto, che se questo sofisticato processo di riorganizzazione non avviene in maniera adeguata la rappresentazione neurale dell’arto amputato potrebbe risultarne alterata, creando così l’illusione sensoriale che quell’arto non sia mai stato amputato (Phantom Limb Sensation, PLS). Dal punto di vista clinico va però fatta una doverosa precisazione diagnostica. Quando si parla di PLS non si sta facendo riferimento a quella porzione di pazienti affetti da un dolore neuropatico post-operatorio legato al fantasma dell’arto, ma a quei pazienti che semplicemente a livello sensoriale percepiscono ancora il proprio arto senza per questo provare dolore. Si parla, infatti, in questo caso solo di “sensazione dell’arto fantasma” o più comunemente in ambito medico di PLS. Solo, invece, in alcuni casi il PLS è anche associato alla cosiddetta “Sindrome dolorosa da arto fantasma” (Phantom Limb Pain, PLP) o del moncone doloroso (residual limb pain, RLP). In quel caso la situazione clinica è logicamente più infausta, per il fatto che il dolore non è, come si pensava un tempo, dovuto ad anomalie cicatriziali a livello del moncone (il che renderebbe il trattamento sintomatico indubbiamente più facile), ma al mantenimento percettivo della rappresentazione dell’arto effettuata dal cervello. Dunque, quando parliamo di anomalie sensoriali legate al cosiddetto “complesso fantasma”, sia che si tratti di PLS, PLP o RLP, non ci si riferisce mai a qualcosa di “periferico”, ma sempre a qualcosa che affonda le sue radici nella complessa organizzazione cerebrale e più nello specifico alle sue eminenti proprietà plastiche.

3.2 Epidemiologia

La metanalisi di Limakatso et al. (2020) ha evidenziato come 6 persone su 10 con un'amputazione chirurgica riportano un PLP. Nello specifico, l'insieme di tutti i casi selezionati dal gruppo di Limakatso, ossia di tutti gli articoli di ricerca pubblicati tra il 1980 e il 2019, hanno evidenziato una prevalenza stimata di PLP del 64%, ben sopra il profilo mediano e con un intervallo di confidenza al 95% relativamente ristretto che va dal 60,01 al 68,05 %.

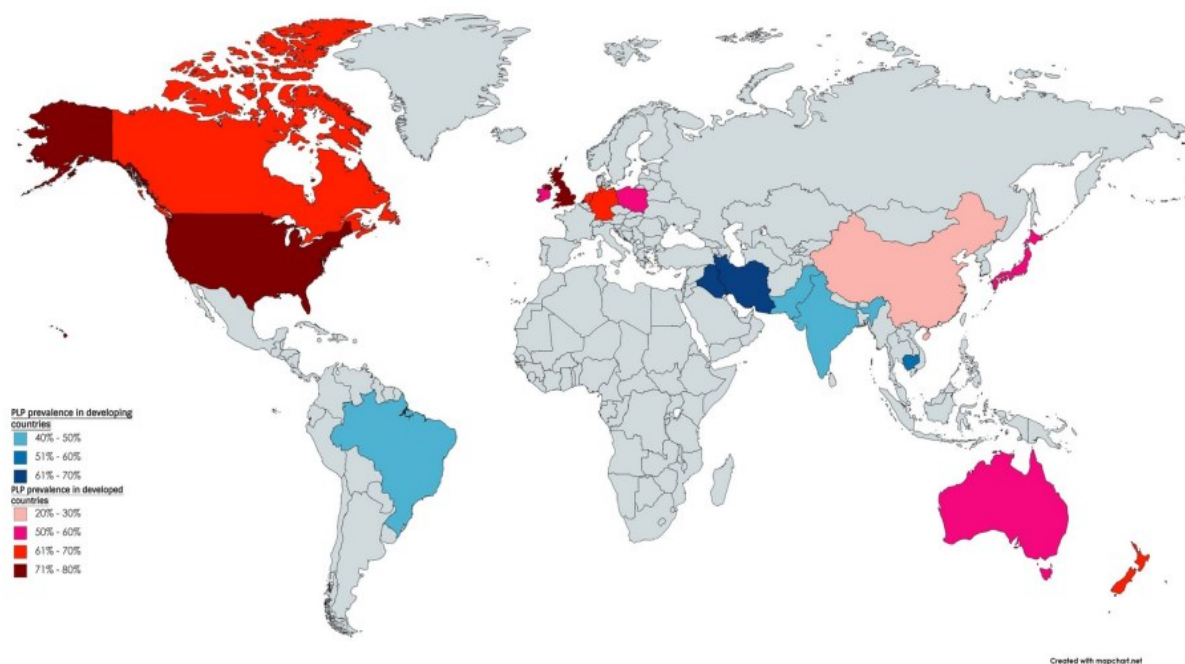


Figura 7: Mappa mondiale che mostra con colori diversi i luoghi in cui sono stati condotti gli studi. In azzurro e blu i luoghi in via di sviluppo, mentre in rosso, rosa e fucsia i paesi sviluppati (Limakatso et al., 2020).

Dal punto di vista topografico sembrerebbe, inoltre, che sia meno presente nei paesi in via di sviluppo rispetto ai paesi industrializzati con una differenza significativa di quasi 13 punti percentuali ($p = 0,03$). Tuttavia, come precisato dagli stessi autori della metanalisi, questo potrebbe anche essere semplicemente un bias di selezione, per il fatto che nei paesi in via di sviluppo il successo del reclutamento dei partecipanti è stato effettivamente inferiore rispetto ai paesi sviluppati (57,9%-68,4%. Figura 7). Inoltre, altro aspetto importante da tenere a mente è che purtroppo molte regioni in via di sviluppo risultano ad oggi estremamente carenti di

ricerca scientifica in merito al PLP, nonostante siano regioni caratterizzate da frequenti amputazioni traumatiche dovute perlopiù a combattimenti o attacchi terroristici (Limakatso et al., 2020). Pertanto, alla luce di ciò, questi recenti dati epidemiologici vanno presi con cautela, in attesa che ulteriori indagini scientifiche confermino o smentiscano quanto evidenziato da Limakatso et al. (2020).

3.3 Propriocezione dell'arto fantasma

Per propriocezione si intende la percezione del proprio corpo e dei propri arti nello spazio. Ebbene, i pazienti affetti da questa particolare sindrome neurofisiologica, tutt'ora non del tutto chiara per quel che concerne la sua eziologia, affermano di percepire il proprio arto mancante come se non fossero mai stati amputati. Addirittura, molti di loro non colgono nessuna differenza sensoriale e propriocettiva, eccezion fatta per il dolore nel caso di PLP o RLP, con l'altro arto sano. In taluni casi, infatti, la percezione sensoriale nei pazienti con PLS è addirittura così nitida che arrivano persino a dimenticarsi di non avere l'arto. Una condizione questa che può logicamente rivelarsi molto pericolosa per quei pazienti con amputazione degli arti inferiori, i quali possono perdere facilmente l'equilibrio e cadere. Tuttavia, va anche detto che non sempre l'arto amputato viene percepito nella sua reale collocazione anatomica. In alcuni pazienti, infatti, l'arto fantasma presenta una conformazione decisamente innaturale, collocandosi in certi casi in modo sconnesso dal punto di vista anatomico. Interessante, a tal proposito, è un caso clinico riportato nello studio di Melzack (1992), in cui si descrive il comportamento bizzarro di un paziente che, quando doveva passare attraverso una porta, si voltava sempre di lato, a suo dire per evitare di urtare contro il muro il proprio arto fantasma, il quale non era più nella sua normale collocazione anatomica, ma rivolto totalmente all'indietro con una curvatura di 90° (Melzack, 1992). In passato, fu proprio la messa in atto di comportamenti bizzarri come questi a fare pensare che questa sindrome altro non fosse che un

semplice disturbo psichiatrico. Solo in anni più recenti la ricerca scientifica ha evidenziato come il problema sia ben lungi dall'essere confinato alla sola sfera mentale, non che comunque questa non giochi un ruolo nodale nella regolazione dell'intensità dolorifica. La sfera psicologica ha, infatti, un eminente potere relativamente al dolore, quindi è verosimile che una condizione di stress psicofisico possa indubbiamente alimentare, se non favorire addirittura in taluni casi, la patologia stessa. Oltre però all'aspetto puramente psicologico c'è infine chi, nel corso degli anni, ha avanzato anche l'idea che alla base della propriocezione dell'arto fantasma ci potesse essere una forte influenza da parte della memoria. Cioè un'influenza del ricordo della posizione dell'arto prima della sua completa amputazione. La memoria, secondo questa teoria, manterrebbe quindi stabile nel tempo l'ultima propriocezione dell'arto "registrata" in modo del tutto automatico. Dal momento che ogni nostra azione nello spazio implica un coinvolgimento della propriocezione, è corretto affermare che ognuno di noi possiede internamente un insieme ridondante di ricordi propriocettivi dei propri arti, i quali non necessariamente superano la soglia della consapevolezza (Anderson-Barnes et al., 2009). Quando un'azione viene ripetuta più volte nel tempo, infatti, la memoria relativa allo schema motorio e alla propriocezione di quell'azione viene presa in carico da centri neurali che agiscono senza il controllo cosciente, che risulterebbe troppo dispendioso. Pertanto, secondo questa ipotesi, le memorie propriocettive esisterebbero anche prima dell'amputazione chirurgica, semplicemente non verrebbero processate dalla coscienza. Dunque, l'amputazione eliminerebbe solo le afferenze periferiche, ma non i ricordi propriocettivi legati agli arti perduti (Anderson-Barnes et al., 2009). L'idea che la memoria abbia un ruolo in tutta questa "illusione" percettiva è legittimamente plausibile per il fatto che ogni sezione del nostro corpo è mappata sul nostro cervello e ciò che viene a mancare, in effetti, non è una zona neurale ma una specifica parte del corpo. Ciò provoca, quindi, secondo questa ipotesi, una concreta dissonanza neurofisiologica; da un lato il sistema visivo riconosce l'assenza dell'arto, ma dall'altro il sistema propriocettivo

continua a funzionare mantenendo attiva l'ultima posizione "salvata" (Anderson-Barnes et al., 2009). A conferma di questa teoria c'è anche il fatto che i casi di pazienti con arto fantasma collocato in posizione innaturale fanno riferimento per lo più a pazienti che hanno subito un'amputazione traumatica dell'arto. Per esempio, quei soldati che hanno coscientemente visto il dilaniamento del proprio arto, così come la sua disposizione innaturale, prima di perdere completamente i sensi (Hill, 1999). Coerentemente a questo gli studi di Bors (1951), Conomy (1973), Ettlín et al. (1980), hanno effettivamente dimostrato come la visione della postura dell'arto al momento di una lesione al midollo spinale sia in grado di provocare nei soggetti in questione (ossia in soggetti con paraplegia, una condizione che può favorire anch'essa l'insorgenza del complesso fantasma) un effettivo mantenimento dell'ultima posizione percepita nel fantasma dell'arto paralizzato (Giummarra et al., 2007). Infine, altrettanto importante e degno di nota è lo studio portato avanti dal gruppo di Gentili et al. (2002) su un gruppo di pazienti sottoposti ad anestesia locale dell'arto superiore. Per poter indagare adeguatamente il complesso dell'arto fantasma dal punto di vista sperimentale, manipolando dunque le differenti variabili indipendenti in oggetto, i ricercatori hanno infatti sottoposto i partecipanti, dopo consenso informato, a delle sessioni di anestesia locale con blocco del plesso brachiale, dal momento che in molti soggetti è possibile evocare artificialmente la sensazione dell'arto fantasma con anestesia locale spinale (Bromage & Melzack, 1974). Nello specifico, i ricercatori hanno sottoposto 81 pazienti ad un blocco nervoso suddividendoli, quindi, ad anestesia riuscita, in due diversi gruppi sperimentali in modo del tutto aleatorio.

- Gruppo1: pazienti con arto superiore anestetizzato appoggiato sul petto (dunque con flessione dell'avambraccio)
- Gruppo 2: pazienti con arto superiore anestetizzato in abduzione

In entrambe i gruppi l'arto immobilizzato era sempre coperto con un telo.

Successivamente ognuno dei partecipanti dei due gruppi è stato sottoposto ad un test percettivo. I pazienti sono cioè stati interrogati sulla percezione del proprio arto (completamente silenziato dal punto di vista motorio e sensoriale), per poi riprendere la sperimentazione. Dopo 15 minuti veniva dunque cambiata la posizione del braccio sotto il telo. Ai pazienti del primo gruppo, che avevano l'arto in flessione, veniva spostato in abduzione e, viceversa, ai pazienti che avevano l'arto in abduzione veniva spostato in flessione, per poi essere nuovamente interrogati sull'effettiva posizione dell'arto sotto il telo. Infine, ai pazienti veniva mostrato l'arto solo transitoriamente, per poi successivamente nascondere sotto il telo in un'altra posizione interrogando nuovamente i pazienti sulla nuova posizione. I risultati dello studio hanno rivelato che un numero significativo di pazienti ha presentato immediatamente dopo l'anestesia una sensazione fantasma (PLS) all'arto superiore, con una propriocezione compatibile alla posizione assunta prima del blocco nervoso ($P < 0.05$). Complessivamente, 32 pazienti del gruppo 1 e 34 del gruppo 2 hanno riportato risposte contrastanti solo nella seconda e terza posizione, con almeno una risposta errata, anche quando veniva loro offerta la possibilità di vedere l'arto per poco tempo. Mentre non è stata registrata alcuna difficoltà significativa nel rilevare l'esatta posizione iniziale, ossia quella compatibile con la posizione assunta dal paziente prima dell'anestesia (Gentili et al., 2002). Ora, dal punto di vista metodologico, il vantaggio di questo modello neuroscientifico è che utilizzando l'anestesia locale al plesso brachiale, è stato possibile comprendere meglio il fenomeno fantasma senza la naturale interferenza di ingressi periferici e centrali che invece è possibile riscontrare negli amputati, come esito delle lesioni nervose. L'anestetico utilizzato nel modello, non penetrando il corno dorsale del midollo, impedisce infatti l'interferenza con le vie nervose centrali coinvolte nella percezione del dolore così come nel controllo propriocettivo, rendendo così il dato pulito e pienamente interpretabile dal punto di vista statistico (Gentili et al., 2002). Alla luce di ciò si può dire che l'ipotesi della memoria propriocettiva sembra essere ben supportata, tuttavia al

momento rimane ancora confinata nell'ambito delle possibili ipotesi mediche, in attesa che ulteriori indagini possano effettivamente far luce sul fenomeno. È possibile, infatti, che queste memorie giochino un ruolo effettivamente nodale ma che tuttavia non siano le sole ad innescare un'influenza decisiva sulla determinazione di una specifica propriocezione del fantasma, né abbiano un ruolo sempre elitario sul dolore nella sindrome di PLP. C'è poi da considerare il fatto che in alcuni pazienti non solo la posizione dell'arto fantasma è innaturale o incoerente, ma vi è anche una sensorialità completamente ectopica dal punto di vista percettivo, il che necessariamente ci porta a pensare che più fattori possano modulare, con un certo livello di priorità, la propriocezione e più in generale la percezione sensoriale dell'arto perduto. La maggior parte dei soggetti amputati, infatti, sperimenta sensazioni tattili e dolorifiche dell'arto amputato se, per esempio, toccati sul viso o addirittura sulle orecchie (Collins et al., 2017; Pazzaglia et al., 2018).

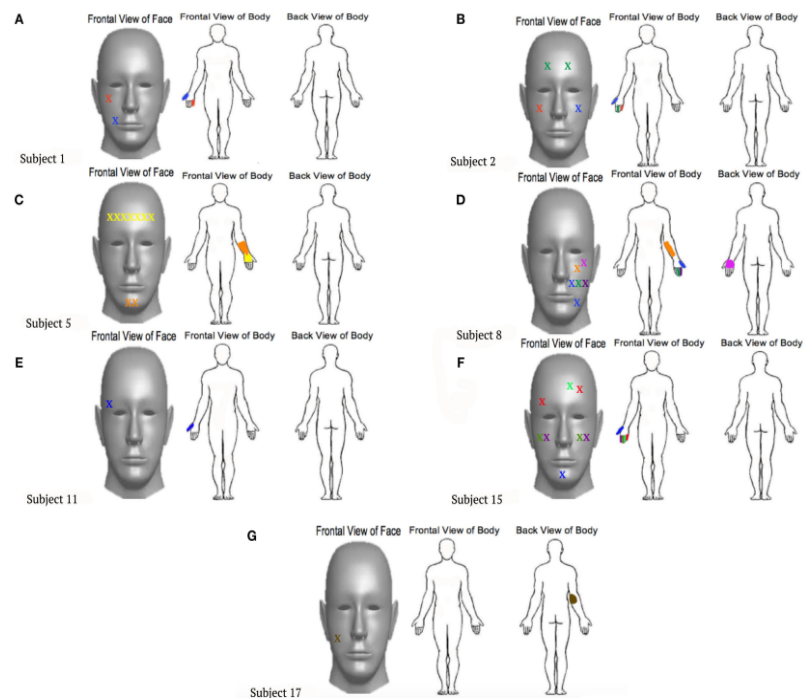


Figura 8. Rappresentazioni somatotopiche dell'arto fantasma spostate su diverse aree del viso (Collins et al., 2017).

Nello studio di Collins et al. (2017) è stato fatto un esperimento proprio per cercare di comprendere meglio questo delicato aspetto neurofisiologico dal punto di vista percettivo. Sono stati selezionati solo pazienti con amputazione unilaterale agli arti superiori. Quindi è stata applicata una serie di stimolazioni a livello del viso. Ebbene, dei 19 partecipanti presi come campione sperimentale, poco meno della metà ha riportato una percezione sensoriale decisamente ectopica. Nella fattispecie, due hanno riferito una stimolazione del mignolo fantasma quando toccati sulla

guancia, mentre altri alla medesima stimolazione hanno manifestato unicamente una sensazione tattile del primo dito. Altri ancora hanno, invece, riferito di sentire, sempre alla stimolazione della guancia, oltre al pollice anche il dorso della mano e parte del braccio amputato, mentre altri soggetti hanno percepito invece il polso e il pollice solo se stimolati unicamente sulla fronte. Tutto questo, in effetti, è abbastanza strano ma verosimilmente può essere spiegato dal fatto che a livello corticale la rappresentazione sensoriale delle dita è limitrofa a quella della faccia. Normalmente queste rappresentazioni sono separate a livello corticale però è plausibile che, dal momento che le afferenze con la periferia vengono perse con l'amputazione chirurgica, le fibre corticali che prima andavano a recepire le informazioni sensoriali dell'arto perduto si riorganizzano, invadendo regioni neurali vicine come quella del viso. In questo modo la sensorialità dell'arto non viene persa, né c'è bisogno che venga mantenuta in modo costante una particolare memoria propriocettiva. Semplicemente la percezione sensoriale dell'arto amputato viene spostata su altre regioni somatotopicamente differenti.

3.4 L'effetto telescoping

La rimappatura delle fibre afferenti dell'arto amputato verso aree corticali limitrofe, come quella della spalla, può portare anche ad un fenomeno noto come telescoping (Giummarra et al., 2007). Dal punto di vista prettamente concettuale, il telescoping è inteso come l'accorciamento della porzione distale dell'arto fantasma (Flor, 2002). In passato, diversi autori avevano etichettato questo fenomeno propriocettivo come un aspetto di neuroplasticità adattativa (Flor et al., 2006), in quanto in molti casi l'accorciamento arriva persino al moncone, facendo così scomparire del tutto la percezione stessa dell'arto fantasma. Tuttavia, studi più recenti hanno chiaramente evidenziato come tale condizione in realtà sarebbe addirittura in grado di aumentare il dolore all'arto fantasma (Giummarra et al., 2007), producendo peraltro

un effetto particolarmente negativo nei confronti dei trattamenti con specchio (Stankevicius et al., 2020).

Sembrerebbe che sia proprio l'input visivo, ossia la visione diretta del moncone e quindi dell'arto dimezzato ad innescare, verosimilmente assieme ad altri fattori fisiologici, una sorta di facilitazione allo spostamento delle fibre nervose a livello corticale (Thøgersen et al., 2018). A tal proposito è interessante l'esperimento portato avanti da Schaefer et al. (2007), in cui attraverso l'ausilio di una mano e di un braccio di gomma, buona parte dei partecipanti (soggetti sani) non solo vedeva chiaramente il proprio arto più lungo, ma addirittura lo percepiva come se fosse stato realmente il proprio e questa sensazione soggettiva è poi stata effettivamente confermata dall'analisi dati della magnetoencefalografia (Schaefer et al., 2007). Nello specifico, la procedura sperimentale prevedeva che i partecipanti (N=10) si sottoponessero a delle sedute di MEG mentre le falangi del pollice e del mignolo della loro mano sinistra venivano stimulate con uno stimolatore pneumatico.

L'esperimento consisteva in tre condizioni:

1. Condizione di illusione
2. Condizione di riposo
3. Condizione di controllo

Nella prima condizione (condizione di illusione) i partecipanti indossavano una camicia speciale, la cui manica sinistra era leggermente più lunga e alla cui estremità era attaccato un braccio con una mano di gomma (Schaefer et al., 2007). Il compito di questi soggetti era di osservare l'arto artificiale per tutta la durata dell'esperimento, ossia per tutta la durata della stimolazione delle due falangi della mano sinistra. Nella condizione di riposo, ai soggetti veniva chiesto semplicemente di rilassarsi e non era presente l'arto artificiale, mentre nella condizione di controllo ai soggetti veniva fatta indossare una camicia diversa in cui l'arto artificiale non era attaccato alla manica ma separato. Dunque, i soggetti nella condizione di controllo vedevano

il braccio e la mano artificiale davanti a loro, ma vedevano altresì che non erano attaccati al loro corpo. Per poter effettuare una comparazione col dato oggettivo della MEG, subito dopo la stimolazione sensoriale delle falangi, ai soggetti veniva chiesto di compilare dei questionari per valutare il grado di percezione sensoriale dell'arto artificiale con una scala da 1 a 6. Quello che è emerso dall'analisi dei questionari è che solo nella condizione di illusione, ossia di visione dell'arto di gomma attaccato al corpo, cinque soggetti hanno percepito il proprio braccio sinistro più lungo, sostenendo peraltro di percepirlo come parte del proprio corpo. Queste rilevazioni non state trovate, invece, nella condizione di riposo e di controllo. Osservando, infine, l'analisi dati della MEG si è potuto chiaramente constatare come nella condizione di illusione la distanza corticale tra l'area di rappresentazione somatosensoriale della falange D1 e della falange D5 era direttamente proporzionale all'intensità dell'illusione percettiva. Cioè, quei soggetti che nel corso dell'esperimento avevano manifestato una profonda illusione percettiva, al punto da considerare il braccio e la mano di gomma come propri, presentavano a livello della corteccia somatoestesica una distanza corticale ridotta delle aree relative alle falangi D1 e D5 (Schaefer et al., 2007). Dunque, secondo questo studio, l'immagine corporea può facilmente essere modulata dagli input visivi, soprattutto se integrati da altri ingressi periferici. È quindi verosimile l'idea che alla base del telescoping vi sia essenzialmente un remapping corticale presieduto dalla stimolazione visiva e, molto probabilmente, anche da parte di altre variabili, tuttavia non ancora adeguatamente indagate. Pertanto, al fine di poter comprendere meglio questo aspetto, recentemente è stato condotto uno studio in mixed reality (MR) per testare la possibile evoluzione di telescoping in soggetti sani sottoposti ad amputazione virtuale dell'arto (Thøgersen et al., 2018). Per poter realizzare una simile esperienza virtuale i ricercatori hanno sviluppato un sistema informatico molto sofisticato, basato sulla tecnologia green-screen unita alla Mixed Reality (MR). Più dettagliatamente, il sistema MR utilizzato consisteva in un visore Oculus Rift ® e due fotocamere SXGA a 60 fps poste di fronte al visore (Thøgersen et al.,

2018). Il soggetto poteva quindi vedere la realtà circostante semplicemente osservando lo schermo interno del visore Oculus. Ora, la peculiarità di questo complesso sistema tecnologico è che le informazioni visive catturate dalle telecamere venivano editate in tempo reale dal software per la rimozione del green-screen, consentendo così a qualunque oggetto di colore verde di essere cancellato dalla scena visiva in modo del tutto automatico. Pertanto, per eliminare l'arto era sufficiente far indossare un guanto ed una manica verde rispettivamente sulla mano e sull'avambraccio del partecipante, sostituendoli digitalmente con l'immagine dello sfondo precedentemente salvata dalle telecamere anteriori sul visore. In questo modo il soggetto poteva vedere solo il proprio moncone, come se fosse stato realmente amputato. Inoltre, essendo il sistema MR strutturato con un'impostazione stereoscopica, in grado cioè di offrire una risoluzione video 3d della scena visiva (Thøgersen et al., 2018), il realismo dell'immagine era decisamente molto elevato e questo garantiva al soggetto un'esperienza visiva molto affine ad un'esperienza reale (Si veda Figura 9).



Figura 9. A sinistra la visuale interna del visore che mostra l'amputazione virtuale dell'arto. A destra la condizione di controllo, in cui l'arto non viene "amputato" (Thøgersen et al., 2018).

L'esperimento prevedeva solo due condizioni:

1. Condizione di illusione percettiva
2. Condizione di controllo

Nella condizione sperimentale, ossia nella condizione di illusione, al partecipante venivano lette ad alta voce alcune frasi standard, strutturate dagli sperimentatori, mentre era seduto davanti ad un tavolo, intento ad osservare la propria mano sinistra che lentamente scompariva. Il discorso dei ricercatori veniva programmato con il sistema MR, così che la mano potesse svanire lentamente davanti agli occhi del soggetto e in piena coerenza con le istruzioni verbali forniteli: "...vorrei che ti concentrassi sulla tua mano sinistra...nota come la tua mano sta lentamente scomparendo" (Thøgersen et al., 2018).

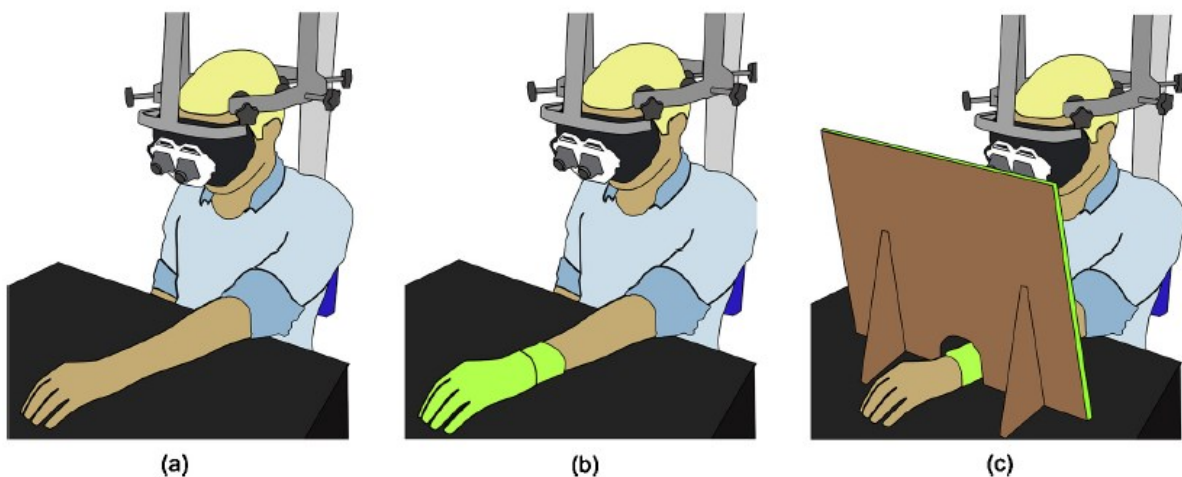


Figura 10. A) il soggetto viene fatto sedere su una sedia speciale dotata di un dispositivo per il fissaggio della testa. In questo modo vengono limitati gli spostamenti del capo. B) al soggetto viene fatto indossare un guanto ed una manica verde per la rimozione graduale dell'arto. C) Viene applicato uno schermo di cartone colorato di verde e con un foro alla base del polso. Il guanto viene tolto e viene lasciata solo la manica verde. In questo modo la pelle della mano sinistra può facilmente essere stimolata dai ricercatori per valutare le possibili variazioni termiche e dolorifiche indotte dall'illusione percettiva. Il ruolo dello schermo è quindi quello di impedire che le telecamere poste davanti al visore vedano la mano staccata dal corpo. Il colore verde dello schermo è necessario perché venga sostituito in tempo reale con l'immagine dello sfondo catturata in precedenza dalle telecamere anteriori del visore (Thøgersen et al., 2018).

Dopo questa prima fase, è stato quindi applicato uno schermo verde all'altezza del polso (Figura 10), eseguendo così la prima serie di misurazioni per lo shift della propriocezione e la magnitudine dell'illusione percettiva. Lo shift propriocettivo è una misura utilizzata come marcatore propriocettivo della disposizione dei propri arti nello spazio (Thøgersen et al., 2018).

Nello studio in questione è stata misurata con l'ausilio di un cursore posizionato sotto il tavolo (Figura 11). Il partecipante aveva quindi il compito di spostare questo cursore con la mano destra, per rispondere alla domanda del ricercatore su dove si collocasse esattamente la posizione della punta dell'indice, della nocca alla radice dell'indice e dell'articolazione del polso della mano sinistra (Thøgersen et al., 2018).

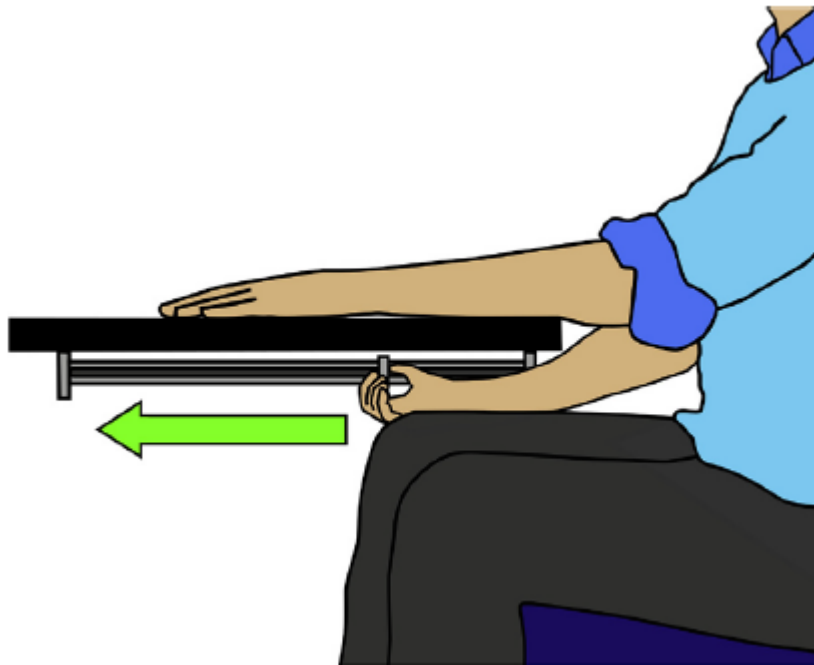


Figura 11. Tecnica utilizzata per la misurazione dello shift propriocettivo: Il soggetto con la mano destra sposta il cursore su dove percepisce i tre punti anatomici presi come riferimento dai ricercatori, ossia la punta dell'indice, la nocca e il polso della mano sinistra virtualmente amputata (Thøgersen et al., 2018).

A seguito di questa preliminare misurazione dello shift propriocettivo è stata quindi valutata la stima di magnitudine dell'illusione percettiva, attraverso l'utilizzo di alcune scale likert a 7 passi, in cui si chiedeva di valutare il grado di proprietà, espropriazione e distorsione del proprio arto sinistro. Dunque, il guanto verde è stato rimosso e sono così state valutate tutte le soglie termiche e dolorifiche previste dal disegno di ricerca, vale a dire per stimoli caldi e freddi e per stimoli dolorosi sia caldi che freddi sulla mano sinistra (Thøgersen et al., 2018). Nella fattispecie, per quel che concerne il calore è stata aumentata la temperatura da 32 a 52,5° C .

con una velocità di 1 grado al secondo, mentre per quel che riguarda il freddo è stata abbassata da 32 ad un minimo termico di 0° C. e sempre con una velocità pari ad 1° al secondo (Thøgersen et al., 2018). Infine, per poter valutare un possibile cambiamento plastico dovuto alla stimolazione visiva nel tempo, è stata effettuata un'ulteriore misura dello shift propriocettivo al termine della condizione sperimentale. Nella condizione di controllo la procedura, sostanzialmente, non differiva di molto se non per il fatto che il feedback visivo non veniva rimosso dal software MR, pertanto il soggetto vedeva tranquillamente la propria mano e il proprio braccio davanti a sé, attraverso il feedback delle telecamere (v. immagine destra della Figura 9). I risultati hanno mostrato che l'amputazione virtuale dell'arto è stata di per sé stessa in grado di causare un effettivo shift propriocettivo, così come anche dei notevoli cambiamenti nella percezione termica e dolorifica. Più dettagliatamente, sembra che i soggetti della condizione di illusione percettiva abbiano sperimentato uno shift prossimale della mano "fantasma" verso il gomito (Thøgersen et al., 2018). Osservando i dati raccolti pre e post condizione sperimentale, sembra effettivamente che la punta dell'indice della mano sinistra si sia spostata verso il gomito ($P < 0.001$), assieme alla nocca e al polso, in modo del tutto analogo a quanto dichiarato da molti pazienti con arto fantasma affetti da telescoping. Compatibilmente a questa misurazione, i questionari hanno mostrato una percezione di accorciamento significativo dell'arto sinistro ($p < 0.025$), come se la mano amputata digitalmente si trovasse a ridosso dell'area prossimale del braccio. Inoltre, sono anche stati confermati dei cambiamenti a livello della sensibilità della mano, come solletico, formicolio e diminuzione della soglia del freddo ($p < 0.001$) (Thøgersen et al., 2018). Questo studio ha dimostrato, dunque che anche dei soggetti sani, non amputati, possono sperimentare l'evoluzione di un telescoping semplicemente manipolando il feedback visivo del proprio arto, a dimostrazione di come questo possa effettivamente avere un ruolo nodale nella patogenesi di questo particolare disturbo.

3.5 Cause neurofisiologiche dell'arto fantasma

Secondo Giummarra et al. (2007) tra le principali cause neurofisiologiche della sindrome da arto fantasma si possono prendere in considerazione almeno tre schemi teorici:

1. Lo schema corporeo
2. Il neuromatrix
3. I neuroni specchio

Per quanto riguarda la prima teoria, quella dello schema corporeo, gli autori evidenziano come alla base dell'errata propriocezione vi sia non solo un remapping corticale a livello della corteccia somatoestesica, come peraltro messo in evidenza dallo studio di Merzenich et al. (1984) sulle scimmie civetta, ma anche una significativa alterazione di altre aree neurali cruciali nella modulazione plastica dello schema corporeo, come il lobulo parietale superiore, la regione parieto-insulare e la giunzione temporo-parietale (Giummarra et al., 2007). Queste aree, complessivamente, costituiscono quel "circuito" neurale che entra in gioco nel mantenimento, nell'aggiornamento e nella rievocazione dello schema corporeo. Pertanto, è comprensibile come un danno a queste specifiche aree neurali possa di per sé provocare significative aberrazioni percettive, inclusa la creazione di arti fantasma (Miyazawa et al., 2004; Giummarra et al., 2007). Secondo Gallagher et al. (1998) lo schema corporeo sarebbe il risultato di rappresentazioni innate del proprio modello biologico e di schemi motori innati come la coordinazione mano-bocca presente già nel bambino appena nato. Dunque, il nostro cervello sarebbe di fatto evolutivamente programmato per crearsi una rappresentazione prototipica del corpo umano (Berlucchi & Aglioti, 1997). Una tesi che effettivamente verrebbe confermata anche dal fatto che i bambini focomelici nati senza uno o più arti spesso manifestano anch'essi forti sensazioni fantasma ad arti che di fatto non hanno mai avuto (Berlucchi & Aglioti, 1997). Dunque, lo schema corporeo da un lato verrebbe ereditato dal proprio patrimonio genetico e dall'altro modificato nel corso dello sviluppo sempre da quelle stesse aree neurali che, se

alterate, manterrebbero stabile la propriocezione di arti perduti o addirittura mai posseduti. Questo aspetto è stato ulteriormente sistematizzato a livello teorico da Melzack nel concetto di neuromatrix (Melzack, 1990; Melzack, 1996; Melzack, 1999), secondo cui la percezione consapevole del proprio corpo sarebbe infatti il prodotto di differenti pattern geneticamente prestabiliti di attività neurale (neurosignature) attivati e modulabili, tuttavia, da una molteplicità di input somatosensoriali, visivi, emotivi e cognitivi, i quali contribuirebbero non solo a creare l'immagine finale dello schema-sé individuale ma anche ad influenzare la percezione del dolore. Dunque, in altre parole, il neuromatrix non sarebbe altro che una complessa articolazione neurale, in parte geneticamente determinata, che avrebbe il compito di plasmare interiormente l'immagine prototipica del proprio corpo e con essa modularne l'esperienza sensoriale, incluso il dolore, attraverso l'influenza esercitata dagli input talamocorticali, limbici e somatosensoriali. Secondo Melzack è pertanto verosimile che alla base dell'arto fantasma e più nello specifico della sindrome da PLP, vi sia essenzialmente una scarica spontanea di alcuni di questi pattern neurali rimasti orfani di afferenze periferiche (Melzack, 1996), mantenendo così una discontinua sensorialità nocicettiva agli arti perduti. Un aspetto poi decisamente molto interessante da tenere in considerazione è che, se si osserva con attenzione le principali aree neurali implicate nella codifica dell'immagine corporea e, dunque dello schema-sé, si può vedere chiaramente come alcune di esse siano estremamente ricche di una particolare categoria di neuroni motori, ossia i neuroni specchio. Si tratta di cellule motorie la cui proprietà è quella di attivarsi sia quando un soggetto compie un'azione, sia quando la osserva, da qui il termine specchio. Il ruolo funzionale di questi neuroni è tutt'ora molto discusso, però è dimostrato come siano cruciali nella comprensione dell'azione altrui, mappando internamente quanto osservato. Il fatto che siano stati trovati questi particolari neuroni motori in queste aree ha aperto l'ipotesi che forse questi neuroni potrebbero avere un qualche ruolo nella genesi dell'arto fantasma o quanto meno nel suo mantenimento propriocettivo (Giummarra et al., 2007). Quando, infatti,

osserviamo un'esperienza dolorifica noi mappiamo internamente quella sensazione, come se effettivamente fossimo a noi a provarla. Tuttavia, alcuni autori ipotizzano che, affinché questo sistema neuronale possa funzionare correttamente, sia necessario che il cervello mantenga invariato il proprio schema corporeo (Giummarra et al., 2007) a prescindere, quindi, dal fatto che un individuo possieda fisicamente tutti gli arti. Molti autori hanno ipotizzato, pertanto, che la semplice osservazione di altri soggetti non amputati possa addirittura favorire delle sensazioni fantasma negli aplosici (Ramachandran & Hirslein, 1998; Brugger et al., 2000). Tuttavia, il gruppo di Gazzola et al. (2007) ha messo in evidenza come il sistema mirror che si attiva nei soggetti aplosici non è proprio identico a quello che si attiva nei soggetti sani. L'attivazione c'è anche per l'osservazione di atti di mano che loro effettivamente non possiedono in quanto aplosici, però questa attivazione avviene in modo ectopico, ossia nelle regioni di piede e di bocca. Quindi c'è un rispecchiamento interno, ma spostato in regioni somatotopicamente diverse. Una condizione che ricorda molto quella di alcuni pazienti con PLS e PLP la cui sensorialità fantasma è in effetti spostata su altre regioni anatomiche, ad esempio, sulla bocca o sulla guancia. Però, l'interpretazione data dagli autori ci porta un po' fuori da questa analogia. Infatti, secondo Gazzola et al. (2007) a livello del sistema mirror, verrebbe fatto semplicemente un confronto sullo scopo raggiunto da altri effettori che questi individui patologici hanno (la bocca e il piede) e lo stesso scopo raggiunto invece dall'effettore che non hanno, ossia la mano. Quindi, in altre parole, alla base vi sarebbe essenzialmente un confronto tra quegli effettori che hanno lo stesso scopo di atti di mano. Dal punto di vista prettamente neurofisiologico quest'interpretazione è più che plausibile, ma non è tuttavia da escludere che proprio questa riorganizzazione plastica del sistema mirror in funzione dello scopo finale dell'azione possa contribuire all'emergere di sensazioni fantasma in regioni somatotopicamente distanti, come quelle descritte da Collins et al. (2017). È però altrettanto verosimile che, nella maggior parte dei casi, sia invece l'assenza di questa particolare

riorganizzazione mirror a stimolare il mantenimento percettivo dell'arto perduto, continuando cioè a mobilitare regioni somatotopiche completamente prive di afferenza periferica (Brugger et al., 2000); ciò provocherebbe, dunque, non la sensazione ectopica dall'arto, ma una sua reale sensazione oltre il moncone, cioè la tipica sensazione fantasma. Chiaramente queste sono tutte ipotesi che necessitano di ulteriori approfondimenti, tenendo conto anche del fatto che nello studio in questione sono stati coinvolti solo due soggetti aplosici contro 16 soggetti sani (Gazzola et al., 2007). Però senza dubbio è interessante sottolineare come alcune delle aree neurali potenzialmente implicate nella genesi e nel mantenimento della sensazione dell'arto fantasma, e più in generale nello schema corporeo (come il lobulo parietale superiore e la regione parieto-insulare), siano poi sostanzialmente le stesse aree neurali che in parte vengono implicate nel sistema mirror. Quindi potrebbe non essere sbagliato pensare che anche queste particolari cellule motorie possano in realtà avere un certo ruolo all'interno del complesso fantasma.

3.6 Implicazioni psicologiche

Molteplici fattori psicologici possono alimentare in certi casi dei dolori neuropatici (Turk, 2002). L'idea che però il dolore da arto fantasma possa essere influenzato significativamente da fattori psicologici è ancora poco indagata. Ciononostante, lo studio di Desmond and MacLachlan (2006), ha messo in evidenza come effettivamente i soggetti con PLP presentino un livello di ansia maggiore rispetto ai soggetti amputati senza dolore, ipotizzando dunque una possibile correlazione tra ansia e PLP. Tuttavia, come è stato poi evidenziato anche da Fuchs et al. (2018), i livelli di ansia registrati dai ricercatori dello studio non superavano mai la soglia critica di riferimento, ma al contrario si assestavano sempre su livelli normali. È possibile, infatti, che non sia tanto l'ansia in sé, quanto piuttosto l'insieme di vari fattori psicologici, ad alimentare se non addirittura favorire il dolore neuropatico post-amputazione. In particolar

modo l'elemento psicologico che sembra avere maggior rilievo sul sistema nocicettivo sembra essere lo stress. La ricerca ha, infatti, dimostrato delle significative relazioni bidirezionali tra stress e PLP (Fuchs et al., 2018), sottolineando come addirittura dei trattamenti psicologici centrati sul trauma (come l'EMDR), siano stati pienamente in grado di ridurre il dolore da arto fantasma con un'efficacia superiore a qualsiasi altro trattamento medico (De Roos et al., 2010). In particolare, i ricercatori del gruppo di De Roos et al. (2010) hanno selezionato 10 pazienti con PLP comparso dopo l'amputazione chirurgica dell'arto inferiore. Non è stato selezionato nessun gruppo di controllo, dunque, tutti e 10 i partecipanti, dopo aver accettato il consenso informato, sono stati sottoposti ad un trattamento di desensibilizzazione e rielaborazione dei ricordi emotivi e somatosensoriali legati al trauma subito. In particolare, un terapeuta chiedeva a ciascun paziente di ritornare con la propria mente all'immagine emotivamente carica connessa al trauma subito, mantenendo nel frattempo fissa la concentrazione oculare sulle dita del terapeuta (De Roos et al., 2010). Sia prima che dopo il trattamento è stata, quindi, valutata l'intensità dolorifica del PLP. Infine, dopo 3 mesi dal trattamento è stata fatta un'ulteriore valutazione come misura di follow-up. L'ANOVA multivariata per disegni within group ha evidenziato che la durata del trattamento è stata in grado di spiegare da sola la variabilità dell'intensità dolorifica di quasi 7 volte ($F=6.7$), con un effetto statisticamente significativo ($P < 0.02$). Il che significa che il trattamento psicologico di desensibilizzazione ha realmente esercitato un effetto sulla riduzione del dolore. Nella fattispecie, il confronto a coppie ha evidenziato una diminuzione significativa del dolore dopo il trattamento con EMDR, con un mantenimento significativo anche dopo 3 mesi. Di 10 soggetti, due soltanto non hanno ottenuto un miglioramento significativo, mentre gli altri hanno manifestato una notevole riduzione dell'intensità dolorifica. Addirittura, due di questi soggetti che hanno risposto positivamente alla terapia con EMDR, hanno ottenuto un miglioramento così forte da richiedere persino la sospensione dei farmaci (De Roos et al., 2010), a dimostrazione di come in effetti la sfera

psicologica possa realmente esercitare un potente effetto terapeutico. Una possibile spiegazione che è stata fornita dai ricercatori è che il trattamento con EMDR vada a stimolare la plasticità corticale a livello delle aree somatoestesiche coinvolte nella neuropatia del PLP (De Roos et al., 2010), eliminando il fantasma, analogamente ad altre tecniche di riabilitazione attualmente in fase di studio, come ad esempio la mirror therapy.

Capitolo 4: RIABILITAZIONE MIRROR: UNA PROSPETTIVA NEUROPSICOLOGICA

4.1 Definizione generale

A partire dagli anni 2000 ci si è chiesti se la stimolazione dei neuroni specchio potesse avere degli effetti riabilitativi. Queste particolari cellule motorie, infatti, sono in grado di evocare una facilitazione a livello della corteccia motoria attraverso l'osservazione di un'azione motoria o più semplicemente tramite l'immaginazione. L'idea quindi che potessero essere utilizzati in un trattamento riabilitativo apparve sin da subito piuttosto plausibile. Tuttavia, siccome le prime ricerche avevano già evidenziato come l'attivazione del circuito motorio appariva significativamente più forte quando c'era anche una riproduzione di quanto osservato dal soggetto, si decise di applicare essenzialmente dei protocolli basati sull' *osservazione-riproduzione*. A tal proposito uno studio interessante è quello pilota condotto da Ertelt et al., (2007) su alcuni pazienti con paresi parziale a seguito di un ictus. Nello studio in questione, sono stati assegnati in modo casuale 16 pazienti al gruppo sperimentale e 16 pazienti al gruppo di controllo. Il gruppo sperimentale prevedeva essenzialmente 18 sessioni di terapia ed ogni sessione aveva una durata di 90 minuti. Le sessioni di terapia consistevano in due fasi:

- Osservare delle azioni di mano e di braccio per 6 minuti
- Riprodurre per 6 minuti le stesse azioni immediatamente dopo averle osservate

L'importanza del training proposto nello studio sta nel fatto che viene instaurata una pratica costante; ovvero c'è una ripetizione del trattamento sperimentale che ha una durata (90 minuti) con un'intensità ben specifica e questo è importante perché è alla base di ogni forma di induzione alla neuroplasticità.

Il gruppo di controllo, invece, doveva eseguire le stesse identiche azioni motorie (ossia 6 minuti di azioni di mano e di braccio), ma senza tuttavia osservare il compito motorio da mettere in

atto. Infatti, a questi soggetti era richiesto essenzialmente di osservare su un monitor solo una sequenza di immagini prive di contenuto d'azione; nella fattispecie, una sequenza di lettere e simboli geometrici (Ertelt et al., 2007).

Al termine, entrambe i gruppi dovevano svolgere gli stessi test di funzionalità motoria svolti prima dell'intervento riabilitativo. Questi test erano:

- Frenchay arm test (FAT);
- Wolf Motor Function Test (WMFT);
- Stroke Impact Scale (SIS)

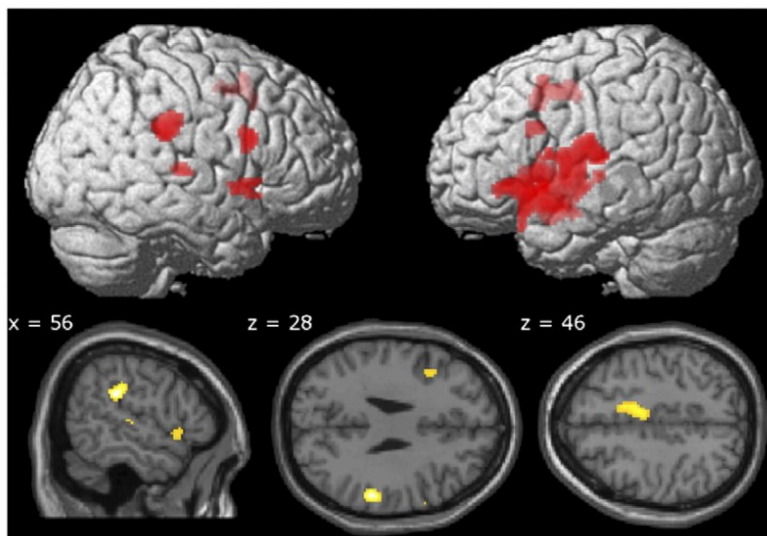


Figura 12: Cambiamenti nell'attivazione corticale dopo delle sessioni di training osservativo (Ertelt et al. 2007).

Infine, dopo 8 settimane queste scale sono state nuovamente somministrate, solo per 7 membri del gruppo sperimentale, al fine di valutare il follow-up del trattamento proposto. Tuttavia, per poter avere anche un dato oggettivo di tipo neurale della capacità

riabilitativa del trattamento mirror, si doveva necessariamente andare a vedere lo stato neurofisiologico prima e dopo il trattamento. Nella fase pre-test e post-test, ossia alla baseline e immediatamente dopo il trattamento, è stata dunque effettuata una misurazione dell'attività corticale con fMRI in un sottocampione di pazienti: 7 del gruppo sperimentale e 7 del gruppo di controllo (Ertelt et al., 2007). Durante questa misurazione neurofisiologica i pazienti dovevano svolgere un compito di manipolazione di oggetti, sia con la mano ipsilaterale che con la mano controlaterale alla lesione cerebrale acquisita. Ebbene, quello che è emerso dai risultati

della risonanza funzionale è che il trattamento ha effettivamente indotto nei soggetti sperimentali un aumento dell'attività corticale durante la manipolazione di oggetti complessi, sia nell'emisfero controlaterale alla mano non affetta che in quello controlaterale alla mano paretica (Ertelt et al., 2007). Alcune delle aree maggiormente attive al post-test facevano chiaramente parte del sistema specchio. Si è registrato, infatti, un potenziamento del giro temporale superiore, della corteccia motoria supplementare, del lobulo parietale inferiore così come anche del giro frontale inferiore e del giro precentrale (Ertelt et al., 2007). Tutte e tre le scale somministrate, inoltre, hanno evidenziato delle modifiche significative con una particolare prevalenza a carico del gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo. Quindi questi dati confermano che il contributo dell'osservazione potenzia la plasticità neurale, più di quanto farebbe la sola attività fisica. Osservando poi i risultati del follow-up sui 7 soggetti sperimentali, si è visto come questo potenziamento cerebrale si mantiene inalterato per 8 settimane dal trattamento e questo in un'ottica riabilitativa è molto importante, perché l'obiettivo finale è quello chiaramente di innescare delle variazioni stabili nel tempo. Dopo queste osservazioni gli studi sui trattamenti di questo tipo (Action Observation Treatment, AOT) sono notevolmente aumentati, coinvolgendo peraltro anche altre categorie di pazienti. Questo tipo di terapia è stata, infatti, studiata anche per pazienti parkinsoniani e afasici. Con i pazienti con ictus il trattamento mirror potrebbe non funzionare sempre, a seguito dell'estensione della lesione cerebrale che può infatti coinvolgere anche le aree del sistema mirror. In anni più recenti sono state proposte sedute di riabilitazione mirror anche per pazienti ortopedici (Patel, 2017). In questo caso, logicamente, non c'è un danno a livello neurologico. Non si parla, infatti, di pazienti cerebrolesi ma di pazienti con un semplice deficit periferico agli arti o all'anca, in cui tuttavia può sussistere l'esigenza di dover intervenire per evitare che, per effetto della plasticità cerebrale, il paziente modifichi la propria camminata, conformandola in modo disadattivo alla stampella (Patel, 2017). Un altro fronte di utilizzo della terapia mirror

è stata però anche la sindrome da arto fantasma, che attraverso la virtual reality (VR) e l'intelligenza artificiale sembra offrire al momento un quadro molto promettente. Ad ogni modo, per comprendere a fondo questo tipo di riabilitazione, occorre soffermarsi brevemente su cosa sia e come funzioni esattamente il sistema specchio.

4.2 Circuitazioni mirror

Neuroni specchio

Bisogna premettere che gli studi neurofisiologici condotti sui macachi nel corso degli anni ci hanno permesso di comprendere come buona parte dei neuroni della corteccia premotoria codificano essenzialmente per lo scopo degli atti motori e non per il movimento (Rizzolatti et al. 1988). Se si osserva più nel dettaglio l'area F5 del macaco, che anatomicamente parlando corrisponde alla porzione rostrale della corteccia premotoria ventrale, si possono trovare neuroni con differenti livelli specificità. Dai neuroni che codificano persino la modalità con cui lo scopo codificato deve essere raggiunto (per esempio, con una prensione di precisione o di potenza), a quei neuroni che invece presentano una codifica astratta dello scopo motorio; cioè codificano sempre uno scopo ma ad alto livello. Per esempio, lo scopo motorio di "afferrare" ma eseguito con i più disparati effettori biologici (bocca, mani ecc...) (p.es. vedere Umiltà et al. 2008). Ora, avere dei neuroni in grado di codificare lo scopo di un'azione motoria evidenzia il fatto che il cervello è perfettamente in grado di crearsi delle rappresentazioni motorie o memorie motorie, spendibili non soltanto durante l'esecuzione dell'atto motorio ma anche durante l'immaginazione motoria o addirittura durante la visione di un oggetto potenzialmente prendibile, evocando, prima ancora di agire, la possibile rappresentazione motoria adeguata alla prensione di quell'oggetto in particolare (Rizzolatti & Luppino, 2001). Quest'ultima attivazione avviene grazie ad una particolare categoria di neuroni detti "canonici" presenti proprio nella corteccia premotoria ventrale. Dunque, laddove ci si aspetterebbe un'attivazione unicamente

visiva (a causa dell'osservazione di un oggetto), in realtà vi è anche un'attivazione motoria, dimostrando come il sistema visivo e il sistema motorio collaborino tra di loro per predisporre il corpo all'interazione con l'ambiente esterno. La scoperta di queste cellule motorie in grado di avere anche una risposta visiva spinse negli anni sempre più ricercatori ad indagare la corteccia premotoria e fu così che, in modo abbastanza casuale, vennero registrati per la prima volta dei particolari neuroni visuomotori, a livello della cosiddetta area F5c del cervello del macaco, che anatomicamente occupa la parte più esposta della corteccia premotoria ventrale rostrale al confine con l'area F4. Si trattava dei neuroni mirror (in italiano neuroni specchio). Ma che cosa hanno di così particolare rispetto agli altri neuroni visuomotori presenti nella corteccia premotoria? La peculiarità che richiamò l'attenzione del gruppo di ricercatori italiani guidati da Rizzolatti è che il neurone che stavano studiando presentava una duplice attivazione; sia quando la scimmia eseguiva un atto finalizzato, sia quando lo vedeva eseguire da parte dello sperimentatore, però la cosa era piuttosto strana perché l'area di registrazione era un'area motoria e le varie prove sperimentali dimostravano chiaramente che non era né un neurone canonico né un neurone con risposta unicamente visiva (Gallese et al. 1996; Rizzolatti et al., 1996). Eppure, aveva una scarica esattamente identica anche solo per l'osservazione dell'azione finalizzata. Dunque, come faceva ad attivarsi? Da dove arrivava l'input visivo? È risaputo come nel solco temporale superiore vi siano neuroni che rispondono effettivamente all'osservazione di atti motori. Tuttavia, questi neuroni non presentano alcuna attività durante l'esecuzione motoria. Quindi, in altre parole, sono dei neuroni puramente visivi che codificano solamente gli aspetti pittorici del movimento biologico. La spiegazione più semplice sarebbe stata, infatti, che l'informazione processata da questi neuroni venisse poi trasmessa direttamente ad F5. Tuttavia, dal punto di vista anatomico, queste due aree non presentano alcuna connessione diretta. Dunque, un'altra possibilità che negli anni è stata vagliata è che il sistema mirror si possa essere originato in modo indiretto, ossia mediante una postazione intermedia

rappresentata da aree che sono innervate sia dal solco temporale superiore (STS) che dall'area premotoria ventrale rostrale (F5) e che questa regione di congiunzione sia il lobulo parietale inferiore e, nella fattispecie, la cosiddetta area PFG (Rozzi et al., 2006). Nella porzione più esposta del lobulo parietale inferiore, infatti, si possono individuare quattro suddivisioni che andando in direzione rostro-caudale, sono rispettivamente l'area PF, PFG, PG e OPT (Gregoriou et al 2006; Rozzi et al. 2006) che nell'uomo sarebbero le corrispondenti anatomiche, nel loro complesso, del giro sopramarginale e del giro angolare. Più nello specifico, PF e PFG corrisponderebbero al giro sopramarginale, mentre le aree PG ed OPT al giro angolare. Ebbene, se si osservano più nel dettaglio le aree PF PFG e PG, si può notare come contengano non solo neuroni sensoriali, ma anche dei neuroni che si attivano durante l'esecuzione del movimento. E se si va a vedere la somatotopia di quelle aree si può notare come andando in direzione rostro-caudale si passa da una prevalenza per la rappresentazione motoria di atti bocca (PF) a rappresentazioni della mano (PFG) e del braccio (PG). Quindi, queste osservazioni hanno portato gli scienziati a considerare il lobulo parietale inferiore come un'area neuronale appartenente al sistema motorio. E questo in parte sembra strano perché queste regioni non possiedono delle proiezioni in grado di esercitare un controllo diretto del movimento. Cioè possiedono delle cellule con codifica motoria, alcune di esse persino con caratteristiche mirror, ma senza avere nessun accesso diretto all'uscita motoria, contrariamente ai neuroni mirror dell'area F5. Tuttavia, questo potrebbe spiegare come mai venga ingaggiata proprio l'area F5 immediatamente dopo l'area PFG. Cioè perché, pur essendoci già dei neuroni mirror in PFG, venga ingaggiata un'area premotoria così distante; la spiegazione è che queste due aree funzionerebbero in modo complementare, suddividendosi i ruoli. Anche perché essendoci delle connessioni reciproche tra PFG ed F5, come evidenziato da diversi studi neuroanatomici, è verosimile che si instaurino delle trasmissioni a feedback in cui l'informazione da PFG passi a F5 per poi tornare di nuovo indietro all'area PFG, nel lobulo parietale inferiore, e quindi arrivare

fino al solco temporale superiore (STS). Questo meccanismo a feedback permetterebbe di lasciare attivi quei neuroni del solco temporale superiore che codificano i dettagli di un movimento biologico osservato, come ad esempio la prospettiva (Caggiano et al., 2011). Quindi, grazie a questa particolare circuitazione, il sistema mirror ci permetterebbe di comprendere qual è lo scopo degli atti motori replicando internamente l'azione dell'altro ma, nello stesso tempo, ci permetterebbe anche di comprendere i dettagli visivi di ciò che stiamo osservando. Un aspetto questo fondamentale, perché se in F5 abbiamo essenzialmente una rappresentazione motoria dell'azione, nel solco temporale superiore abbiamo invece una descrizione pittorica delle azioni e solo mantenendo attiva la codifica di quella descrizione è possibile arrivare pienamente ad una comprensione del comportamento altrui.

Tipologie di neuroni specchio

Contrariamente a quanto si potrebbe pensare i neuroni specchio non sono tutti uguali. Ci sono, infatti, diverse categorie di neuroni mirror. Nello studio di Umiltà et al. (2001) sono stati registrati dei neuroni che, per esempio, rispetto agli altri, scaricano anche quando viene a mancare una parte dell'informazione visiva. Nella fattispecie, l'esperimento prevedeva due condizioni sperimentali (afferramento di un oggetto in piena visione e afferramento di un oggetto, precedentemente visto dalla scimmia, nascosto dietro uno schermo opaco per oscurare la seconda parte dell'azione) più due condizioni di controllo (pantomima in piena visione dell'oggetto assente e pantomima di un afferramento sempre dietro uno schermo opaco). La registrazione dei neuroni mirror ha mostrato che su 37 neuroni 19 rispondevano all'osservazione dell'afferramento anche nella condizione con lo schermo opaco (Umiltà et al., 2001). La sperimentazione dimostrò, infatti, come i neuroni attivi nella condizione di buio non mostravano alcuna differenza significativa in termini di scarica neuronale rispetto alla condizione in piena visione. Quasi come se questi neuroni "sapessero" qual'era il momento

esatto in cui la mano cominciava ad assumere una certa configurazione spaziale per eseguire l'atto motorio di afferramento, anche senza che la scimmia avesse un effettivo input visivo su di esso. La cosa sorprendente poi è che la pantomima dell'afferramento, sia in piena visione che dietro uno schermo opaco, non provocava mai alcuna risposta nonostante dal punto di vista visivo la condizione con lo schermo opaco fosse assolutamente identica a quella in cui l'oggetto era realmente presente. Però, tornando a soffermarci sull'eterogeneità dei neuroni mirror, occorre sottolineare il fatto che alcuni dei neuroni registrati presentavano una particolarità piuttosto insolita. In alcuni di questi neuroni, infatti, la temporizzazione della scarica era anticipata per la sola condizione di schermo opaco (Umiltà et al., 2001). Cioè questi neuroni, a differenza degli altri neuroni mirror registrati, non appena veniva introdotto il pannello scuro cominciavano ad attivarsi molto tempo prima, quando addirittura la mano dell'operatore scompariva dalla vista della scimmia, quindi molto prima che la mano iniziasse ad assumere una conformazione adeguata a quello che poi sarebbe stato l'atto motorio finale. Quasi come se questi neuroni fossero in grado di fare una sorta di "previsione" sulla base dei pochi dati disponibili e ciò, verosimilmente, sarebbe possibile proprio grazie al contributo delle memorie motorie. Non è sbagliato pensare, infatti, che questa attivazione neuronale precoce possa essere dovuta proprio al fatto che la situazione è oscurata e vi sia quindi la necessità di recuperare la rappresentazione dell'azione per completare "virtualmente" un atto motorio che di fatto non è visibile. Quindi, in altre parole, questi neuroni, seppur in numero limitato, giocherebbero un ruolo nodale nel recuperare la rappresentazione dello scopo di un atto motorio che, in quel dato momento, è solo parzialmente visibile. Oltre però a questo particolare sottogruppo di neuroni mirror ne esistono chiaramente degli altri. Per esempio, sono stati registrati neuroni specchio che rispondono anche alla stimolazione acustica (Kohler et al., 2002). Come si può vedere nella Fig. 13, il primo neurone registrato dal gruppo di Kohler è un tipo di neurone mirror che sembra rispondere unicamente per il suono provocato dalla rottura di un pezzo di carta. Il secondo,

invece, risponde al suono prodotto da un bastoncino che viene fatto cadere a terra. Se si osserva attentamente il tracciato, si può vedere come nella condizione audiovisiva (V+S) entrambi i neuroni hanno una forte scarica sia prima (ossia durante l'osservazione dell'atto) che durante il suono dell'azione, mentre nella condizione di solo ascolto questi neuroni scaricano solo quando l'informazione sonora è effettivamente presente. Però la cosa davvero interessante è che il

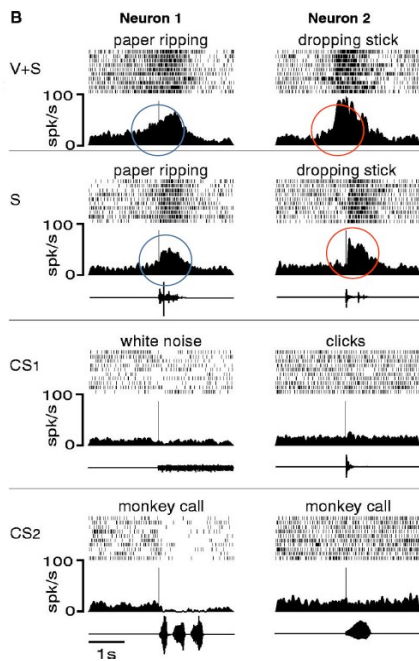


Figura 13. Traccati elettrofisiologici di neuroni mirror audiovisivi, altamente selettivi per il tipo di rumore connesso ad uno scopo motorio ben preciso; rompere la carta o buttare a terra uno stecco (Kohler et al., 2002).

primo neurone non risponde all'input acustico a cui è invece sensibile il secondo neurone; c'è quindi una forte specificità, confermata anche da diversi esperimenti di controllo. Il significato dello studio di Kohler et al. (2002) è che le risposte di tipo mirror possono, quindi, essere elicitate sia in modalità visiva che in modalità acustica. Tuttavia, va detto anche che alcuni neuroni audiovisivi, per poter scaricare completamente, necessitano di una doppia stimolazione (visiva ed uditiva) ed effettivamente, se ragioniamo in termini filogenetici, questo ha senso perché chiaramente è la situazione migliore per comprendere la realtà che ci sta

intorno. Ciononostante, non è ancora chiaro dal punto di vista neurofisiologico come l'informazione acustica arrivi ai neuroni mirror di F5.

La proprietà più importante dei neuroni mirror è la congruenza tra l'attivazione per l'atto osservato e quella per l'atto eseguito. Categorizzandoli in base alla congruenza, poco più del 60% vengono definiti *congruenti in senso lato*. Nello studio di Gallese et al. (1996) si può vedere, infatti, l'esempio di un neurone mirror in grado di rispondere durante l'esecuzione da parte della scimmia di una prensione di precisione, ma non durante l'esecuzione dello stesso atto motorio effettuato però con una prensione di potenza. Tuttavia, durante l'osservazione di

uno sperimentatore che esegue gli stessi atti motori da essa effettuati, lo stesso neurone si attiva in ugual modo sia quando viene eseguita dall'operatore una prensione di precisione, sia quando viene eseguita una prensione di potenza. Quindi c'è una congruenza per quel riguarda lo scopo motorio (ovvero "afferrare" che essendo un mirror è presente sia in osservazione che in esecuzione), però nella condizione esecutiva (cioè quando è effettivamente la scimmia ad eseguire l'azione) l'attivazione del neurone è più specifica che nella condizione osservativa. Ci sono poi dei neuroni mirror strettamente congruenti, in cui oltre ad esservi una congruenza tra lo scopo dell'atto motorio osservato e di quello eseguito, c'è anche una piena congruenza del modo in cui quello scopo motorio viene raggiunto; una caratteristica questa che, dal punto di vista evolutivo, potrebbe aver costituito il presupposto neurale per l'imitazione nella specie umana.

Il gruppo di Caggiano et al. (2011) ha inoltre voluto testare anche la possibile esistenza di neuroni mirror in grado di attivarsi anche per atti non naturalistici, ossia per atti motori osservati attraverso videoclip in un monitor. Ciò che si è trovato è che tutti i mirror registrati erano perfettamente in grado di rispondere agli atti naturalistici, mentre solo alcuni anche agli atti motori filmati e comunque in quella piccola percentuale che rispondeva ad entrambe le condizioni c'era sempre una prevalenza di scarica per l'atto naturalistico, perché effettivamente dal punto di vista filogenetico è la condizione a cui siamo stati maggiormente esposti. Posto, dunque, che i mirror possono anche rispondere per atti motori in video, il gruppo di Caggiano et al. (2011) ha voluto verificare se ci fossero anche dei neuroni mirror specifici per una certa prospettiva di osservazione e quello che hanno rilevato è che, in effetti, il 74% dei neuroni mirror dell'afferramento registrati in F5 erano sensibili al tipo prospettiva; laterale (90°), frontale (180°) e in prima persona o soggettiva (0°) e solo un 30% di questi neuroni prospettiva-dipendenti erano effettivamente selettivi per un solo punto di vista. Più nello specifico, i ricercatori hanno trovato 101 neuroni che rispondo in modo preferenziale alla prospettiva

frontale, 69 alla prospettiva laterale e 124 che rispondono alla prospettiva soggettiva. Mentre all'interno di quel 30% di neuroni altamente selettivi, 15 rispondono solo alla prospettiva frontale e basta, 18 solo a quella laterale e 27 solamente a quella soggettiva (Caggiano et al., 2011). Ora, osservando i numeri appare chiaro come la prospettiva in prima persona sia quella più rappresentata, però analizzando bene la statistica effettuata dai ricercatori nell'articolo si può chiaramente vedere come in realtà questa preferenza non sia statisticamente significativa.

Plasticità del sistema specchio

Plasticità del sistema mirror nella scimmia

Come è stato ampiamente esposto nel capitolo 2 i neuroni non hanno solo la capacità di modificare temporaneamente le proprie connessioni, ma hanno anche la capacità di modificarsi strutturalmente in funzione dell'esperienza, ampliando o diminuendo così delle funzioni

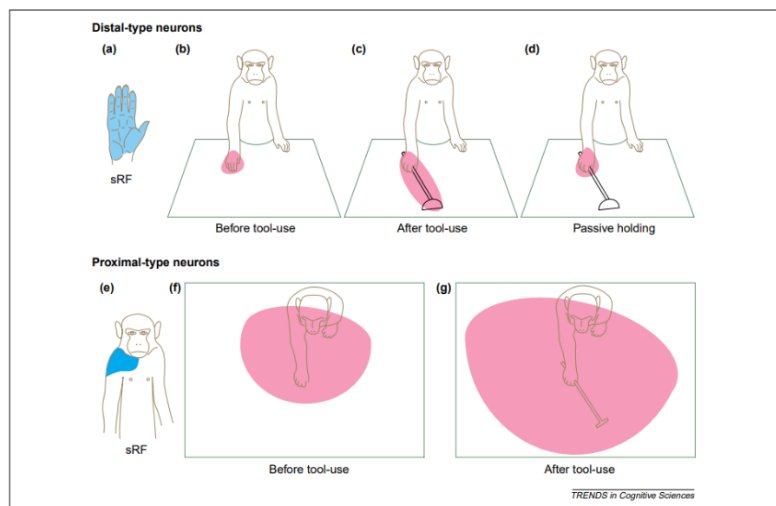


Figura 14. Modulazione plastica dei campi recettivi dei neuroni bimodali dopo un allenamento all'uso di un utensile. Il campo recettivo di questi neuroni, dopo il training, ha aumentato le dimensioni al punto da includere lo strumento, come se fosse un prolungamento del braccio naturale della scimmia (Maravita & Iriki, 2004)

in modo relativamente stabile. Un esempio di come questo possa essere dimostrato a livello di singoli neuroni lo si può trovare nello studio di Iriki et al. (1996). L'esperimento consisteva nel far addestrare un gruppo di scimmie ad utilizzare un utensile, studiando come marcatore neurofisiologico i campi recettivi dei neuroni bimodali visuo-tattili, ossia quei neuroni che sono sia somatosensoriali che visivi (v. per proprietà simili Fogassi et al., 1996). Questi neuroni scaricano sia quando l'animale viene toccato, per esempio sul collo, sul volto o sul braccio (che

sono le zone corporee in cui sono localizzati i campi recettivi tattili di questi neuroni) sia quando qualcosa è presente nello spazio vicino a questi campi recettivi, indipendentemente dallo sguardo della scimmia (Fogassi et al., 1996). Come si può vedere chiaramente dall'immagine nella Fig. 14, il training motorio per l'utilizzo dell'utensile ha determinato un ampliamento dei campi recettivi visivi di questi particolari neuroni bimodali, al punto da includere persino lo strumento, quasi come se per questi neuroni lo strumento fosse diventato una parte del proprio corpo (Iriki et al., 1996). A seguito di questi risultati sono state fatte ulteriori indagini, anche attraverso l'utilizzo di traccianti neuroanatomici e quello che è emerso è stato davvero sorprendente. Confrontando un gruppo di scimmie sottoposte ad allenamento con altre di controllo non sottoposte al training, si è visto che solo quelle che avevano effettuato il training presentavano delle variazioni strutturali significative (Hihara et al., 2006). Nella fattispecie, si era creata una nuova proiezione anatomica dai centri visivi superiori all'area intraparietale, con una maggiore densità di connessioni anche nelle aree somatosensoriali e nelle cortecce parietali posteriori, come ad esempio l'area 7a, meglio nota come area PG (Hihara et al., 2006).

Un altro studio interessante da tenere poi in considerazione è quello del gruppo di Umiltà et al. (2008), che mostra chiaramente come, a seguito di un training con due tipi di pinze, si vengano a formare dei neuroni mirror in grado di rispondere all'osservazione di un afferramento effettuato con le pinze. Tuttavia, il lavoro di Ferrari et al. (2005), ha dimostrato come anche semplicemente dopo un periodo di allenamento visivo (in cui la scimmia non viene allenata ad usare l'utensile ma semplicemente osserva un altro agente compiere delle azioni motorie con un determinato utensile), nella porzione più laterale della corteccia premotoria ventrale rostrale si possano formare dei neuroni mirror che hanno un'attivazione altamente selettiva per gli strumenti. Quindi, in altre parole, si vengono a creare dei neuroni mirror che non rispondono quando l'agente compie un atto motorio con la mano ma solo ed esclusivamente quando lo compie con l'utensile. Tuttavia, la formazione di questi "nuovi neuroni mirror", non è dovuta

alla creazione di un nuovo repertorio motorio, ma al fatto che la scimmia è stata esposta ad atti motori che, in termini di scopo, sono paragonabili a quelli ottenibili con gli effettori biologici (Ferrari et al., 2005). Quindi quello che noi osserviamo come un effetto plastico del sistema mirror di F5, in realtà riflette anzitutto la plasticità neurale di questa zona che, di fatto, consentirebbe di estendere la comprensione degli scopi anche a ciò che non fa parte direttamente del proprio repertorio motorio.

Plasticità del sistema mirror nell'uomo.

Coerentemente con gli studi eseguiti sui singoli neuroni nel macaco, anche nell'uomo è stato possibile verificare l'effetto dell'esperienza motoria sull'attività del sistema mirror, cioè investigare cosa succede al sistema specchio quando il repertorio motorio viene modificato dall'esperienza. Tra i vari studi che sono stati effettuati, uno particolarmente affascinante è quello del gruppo di Aglioti et al. (2008), che ha sottoposto 30 partecipanti a due esperimenti diversi:

- Verificare la possibile capacità dei giocatori esperti di basket di predire il destino della palla, semplicemente osservando il comportamento di un altro giocatore.
- Valutare, tramite stimolazione magnetica transcranica, un eventuale aumento dei potenziali evocati motori durante l'osservazione dei tiri a canestro.

Più precisamente, il campione era formato da:

- Esperti (ossia 10 giocatori di Basket)
- Soggetti con esperienza visiva pari a quella degli esperti (quindi un gruppo misto formato da 5 giornalisti e 5 coaches che però al momento non giocavano più)
- Novizi (soggetti non esperti a pallacanestro)

Durante il primo esperimento, venivano mostrati a tutti e tre i gruppi due diversi filmati:

- Uno mostrava un giocatore che lanciava il pallone da basket e faceva canestro
- L'altro, invece, mostrava un giocatore che lanciava il pallone ma senza fare canestro.

Tuttavia, durante la sperimentazione questi filmati venivano interrotti a livello di determinati frame prefissati dagli sperimentatori e ogni volta che venivano interrotti veniva chiesto ai partecipanti di predire il destino di quella palla basandosi unicamente sulla parte del comportamento osservato del giocatore (Aglioti et al., 2008). Quello che è emerso, coerentemente all'ipotesi di ricerca, è che solo il gruppo degli esperti era in grado di predire la traiettoria della palla quando addirittura questa non era ancora stata lanciata dal giocatore, mentre i partecipanti degli altri due gruppi facevano una predizione corretta solo quando potevano osservare il frame in cui la palla cominciava a staccarsi dalla mano del giocatore. E questo indubbiamente è un dato interessante perché, in effetti, sia il gruppo esperti che il gruppo misto possedevano entrambe la medesima esperienza visiva. Verosimilmente questo risultato è dovuto al fatto che negli esperti, essendo dei giocatori professionisti che si allenano quotidianamente, c'è una costante attività motoria che chiaramente non c'è nei soggetti del gruppo misto e quindi solo gli esperti si basano sulla cinematica del movimento osservato. Analizzando poi i risultati della seconda parte dell'esperimento, che prevedeva delle somministrazioni di TMS durante l'osservazione dei tiri a canestro, di un'immagine statica del giocatore e di un video di un calciatore che calciava un pallone, si è visto che sia i soggetti del gruppo misto che i soggetti esperti avevano manifestato, solo per i video di pallacanestro, un aumento significativo dei potenziali motori-evocati. Tuttavia, solo il gruppo esperti aveva manifestato una maggiore facilitazione motoria cortico-spinale durante l'osservazione di lanci errati rispetto ai lanci corretti al frame 781 ms della clip, ossia quel frame temporale in cui la palla si stacca dalle mani del giocatore (Aglioti et al., 2008). Gli autori suggeriscono che questa attivazione possa essere interpretata, dunque, come la firma neurale di una memoria motoria (Aglioti et al., 2008), la quale risulterebbe fondamentale per l'attivazione del sistema mirror e quindi per arrivare a comprendere automaticamente il destino di un'azione che deve ancora verificarsi, ma che però ricalca qualche cosa che già abbiamo vissuto o che geneticamente fa

parte del nostro repertorio d'azione. Affinché, infatti, il sistema specchio possa attivarsi è necessario che l'azione che viene osservata già esista come rappresentazione nel repertorio motorio di colui che osserva (Buccino et al., 2004). Però è chiaro che più un'azione è rappresentata e maggiore sarà l'attivazione. Questa è la ragione per cui, semplicemente osservando la cinematica di un altro giocatore questi soggetti, essendo degli esperti e praticando quindi con costanza un allenamento motorio, erano perfettamente in grado di comprendere in modo del tutto automatico, cioè senza alcun ragionamento cosciente, il destino di quell'azione. In altre parole, la loro esperienza motoria oltre che visiva consentiva di poter meglio replicare internamente l'attività neurale del giocatore. Da qui si può capire l'importanza evolutiva dei neuroni mirror. Poter predire il destino di un'azione prima ancora che accada, semplicemente basandosi sulle poche informazioni visive disponibili è qualcosa che sicuramente nel corso della nostra evoluzione ha fatto la differenza tra la vita e la morte e che potrebbe verosimilmente essere sfruttato ancora oggi, per esempio, in ambito militare per migliorare le performance dei soldati in missione. Ad esempio, un possibile potenziamento del sistema mirror nei soldati sarebbe possibile ottenerlo rendendo gli addestramenti militari ancora più realistici ed intensivi di quanto già non lo siano, sfruttando magari anche la realtà virtuale per anticipare tutte le possibili situazioni belliche a cui potrebbero andare in contro. Recentemente altri studi (Makris & Urgesi, 2014; Paolini et al., 2023) hanno poi confermato quanto messo in evidenza da Aglioti et al. (2008), dimostrando quindi come le aree del sistema mirror siano effettivamente implicate in questa capacità previsionale e confermando ulteriormente che la plasticità del sistema motorio è in grado a sua volta di riflettersi sul sistema mirror. Tuttavia, il fatto che anche i neuroni mirror siano anch'essi soggetti ad una plasticità ha subito suscitato inevitabilmente l'attenzione da parte del mondo clinico, anche perché queste cellule non hanno solo la capacità di essere influenzate dalla plasticità del sistema motorio ma a loro volta hanno anche la capacità di influenzarla. Quindi l'idea che si possa sfruttarle per evocare dei fenomeni plastici laddove

diversamente non sarebbe possibile evocarli è qualcosa che i ricercatori hanno subito messo al vaglio della ricerca scientifica, al fine di poter trovare nuove strade riabilitative in grado di ripristinare uno stato di benessere psicofisico per patologie debilitanti come, ad esempio, la sindrome da arto fantasma.

4.3 Tecniche di riabilitazione per pazienti con arto fantasma

Dopo aver affrontato le principali caratteristiche del sistema mirror nel paragrafo precedente, verranno ora messe in evidenza le principali tecniche di riabilitazione dei pazienti con sindrome da arto fantasma basate, almeno in parte, proprio sulla stimolazione del sistema specchio. Tra queste vi sono senza dubbio la mirror box (Ramachandran & Hirstein, 1998), l'uso della realtà virtuale, ampiamente utilizzato nella stimolazione del sistema mirror anche per i pazienti con ictus (Mekbib et al., 2021) e ovviamente anche le tecniche di immaginazione mentale come la Graded motor imagery (GMI).

Mirror box

Come è già stato ampiamente esposto all'inizio del capitolo esiste la possibilità per questi pazienti che i messaggi elaborati a livello dalle aree somatoestesiche e motorie del cervello continuino ad essere riferiti alle regioni corporee amputate, creando il fenomeno dell'arto fantasma (Ramachandran & Hirstein, 1998). L'idea alla base della mirror box è quindi quella di "ingannare" il sistema a feedback del cervello. Noi sappiamo infatti che normalmente il cervello di questi pazienti mantiene neurofisiologicamente l'arto amputato, ma tuttavia non è in grado di ricevere più alcun feedback visivo da parte di quella regione periferica; esiste quindi un mismatch tra percezione ed esperienza visiva. Una condizione che molto verosimilmente gioca un ruolo decisivo nella percezione dolorifica dell'arto fantasma. Ebbene, ricreando l'arto

amputato facendo specchiare al paziente l'altro arto sano all'interno di una scatola ad hoc, secondo questo paradigma, si obbligherebbe il cervello a "riaggiustare" le fibre responsabili di quel dolore neuropatico, facendo però scomparire non solo il dolore ma addirittura l'arto fantasma stesso.



Figura 15. Esempio di una terapia sperimentale con Mirror Box. Il paziente inserisce l'arto sano in una grossa scatola divisa a metà da uno specchio. Il paziente ha così l'opportunità di sperimentare l'illusione che l'arto amputato ci sia ancora e che possa muoverlo assieme all'altro arto sano sperimentando un sollievo dal dolore neuropatico sia durante che dopo la terapia (Ramachandran & Hirstein, 1998).

Tuttavia, viene da chiedersi quale sia attualmente lo stato dell'arte nella letteratura medica riguardo questa particolare forma di riabilitazione. Osservando i dati offerti dalla metanalisi condotta da Xie et al. (2022) sembrerebbe che la mirror therapy sia effettivamente in grado di ridurre già entro quattro settimane dalla terapia l'intensità dolorifica del PLP, con un maggior beneficio per quei pazienti che presentano dolore da più di un anno ($P=0.02$). Tuttavia, va detto che la metanalisi in questione non ha riportato nessuna prova riguardo al fatto che questi benefici possono poi mantenersi nel tempo, per quanto sia doveroso sottolineare come il rigore statistico adoperato negli studi presi in esame dal gruppo di Xie et al. (2022) non sia

sufficientemente esaustivo per poter interpretare correttamente questi risultati. Gli stessi autori della metanalisi sottolineano, infatti, come la mancanza di prove riguardo il fatto che i benefici di questa terapia possano mantenersi nel tempo, potrebbe verosimilmente essere dovuto proprio all'esiguità dell'ampiezza campionaria degli studi analizzati e quindi ad un numero troppo limitato di dati (Xie et al., 2022). L'efficacia di questa tecnica sembra quindi per il momento ancora piuttosto controversa (Guemann et al., 2022), come peraltro dimostrano i risultati offerti da differenti studi condotti in precedenza da vari autori (Rothgangel et al., 2011; Plumbe et al., 2013; Barbin et al., 2016; Batsford et al., 2017; Colmenero et al., 2018; Thieme et al. 2018; Wang et al., 2021). E se si osservano bene i dati, soprattutto quelli offerti dalle metanalisi di Wang et al. (2021), risulta abbastanza chiaro come la maggior parte degli autori non abbia utilizzato sufficienti rigori statistici, come ad esempio degli studi randomizzati. A tal proposito il gruppo di Guemann et al. (2022) ha condotto una metanalisi piuttosto restrittiva con 3 criteri di esclusione:

1. Articoli con testo incompleto
2. Pubblicazioni in lingue diverse dalla lingua inglese o dalla lingua francese
3. Mancanza di un gruppo placebo; erano escluse tutte le ricerche che, come controllo, usavano altre tecniche di riabilitazione.

I criteri di inclusione, invece, dovevano riguardare:

1. Adulti con PLP da amputazione unilaterale
2. Intervento con Mirror Therapy (MT); erano escluse altre terapie correlate come il VR e l'immaginazione motoria
3. Confronto con placebo adeguato alla MT
4. Intensità, durata e frequenza del PLP
5. Interferenza con la qualità della vita quotidiana (misurata con apposite scale)

6. Studi randomizzati e controllati pubblicati tra il 1996 e il 2021

Come banche dati il gruppo si è servito di database come *PubMed*, *Biblioteca Cochrane*, *CHINAL*, *PEDro* ed *Embase*. Quindi, hanno proceduto alla selezione degli studi condotti in base ai criteri preposti estraendo solo i dati pertinenti allo studio (Guemann et al., 2022).

Hanno trovato che, in effetti, la maggior parte degli studi qualitativamente idonei selezionati per l'analisi dati (Brodie et al., 2007; Finn et al., 2017; Ramadugu et al., 2017; Rothgangel et al., 2018) non presentava nessuna differenza statisticamente significativa tra il gruppo sperimentale (MT) e quello di controllo (Placebo). Tuttavia, bisogna precisare che, se andiamo a vedere il confronto intragruppo di alcuni di questi studi, in realtà un effetto di riduzione del dolore ce l'hanno. I dati offerti dagli studi di Finn et al. (2017) e Ramadugu et al. (2017) evidenziano infatti come la terapia con MT sia stata in grado di provocare, a livello intragruppo, un'effettiva riduzione di PLP. Tuttavia, se osserviamo la statistica, vediamo anche come tale riduzione non si discosti in modo significativamente diverso rispetto a quanto registrato nel gruppo placebo (Guemann et al., 2022). Solo uno studio, dei cinque analizzati, è effettivamente stato in grado di dimostrare una differenza statisticamente significativa tra il gruppo MT e il gruppo di controllo, riscontrando nella fattispecie una riduzione del PLP dopo la terapia, con un mantenimento dell'effetto riabilitativo anche alla quarta settimana di follow-up (Chan et al., 2007) (Fig. 16). Lo studio del gruppo di Chan et al. (2007) è stato, infatti, l'unico di quelli selezionati da Guemann et al. (2022) a manifestare sia una riduzione significativa nel confronto intragruppo che nel confronto intergruppo, per quanto il basso numero di partecipanti ($n < 10$) non consenta purtroppo di generalizzare i risultati alla popolazione generale degli amputati. Ad ogni modo, i dati che vengono esposti nell'articolo sono incoraggianti e sembrano collimare piuttosto bene con l'idea che il sistema specchio possa realmente essere alla base del processo riabilitativo. Però quello che è davvero interessante sottolineare di questo studio è che alcuni dei soggetti del gruppo placebo (sottoposti ad un training con specchio coperto) e di un altro

gruppo di terapia preso come confronto (visualizzazione mentale) ad un certo punto sono stati spostati nel gruppo della MT.

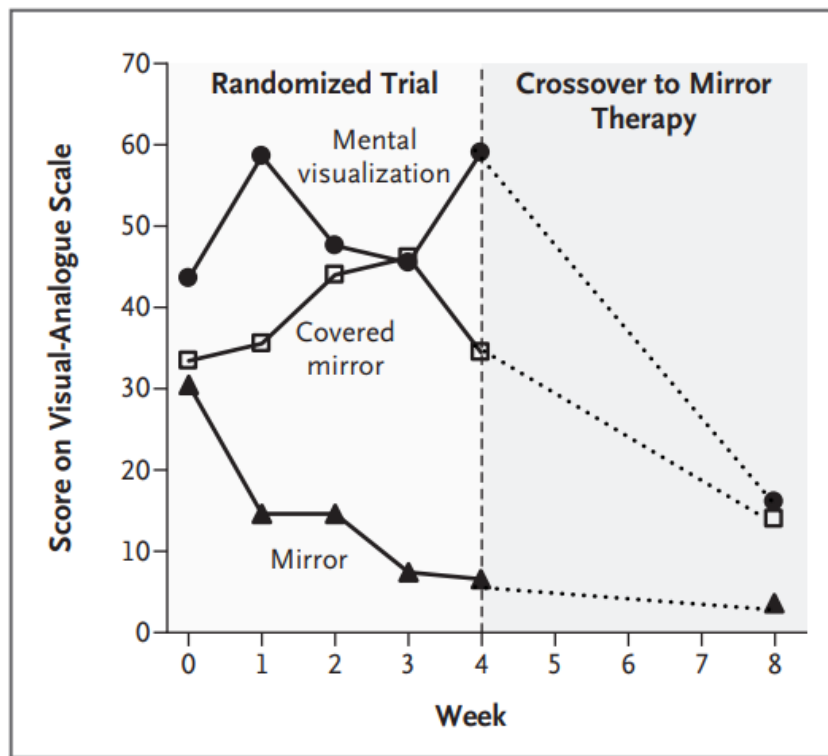


Figura 16. Variazione lungo le settimane del punteggio mediano alla scala sull'intensità del dolore da arto fantasma. A sinistra (linee continue) sono rappresentate le mediane dei tre gruppi nelle varie settimane dopo l'inizio del trattamento. A destra, invece (linee tratteggiate) sono rappresentate le mediane dei soggetti che hanno praticato a prescindere dal gruppo di partenza la Mirror Therapy. Si può vedere come in tutti e tre i gruppi c'è un abbassamento significativo del punteggio alla scala visuo-analogica del dolore (Chan et al., 2007).

Come si può vedere dalla figura 16, dopo sole quattro settimane, la mediana dei tre gruppi di soggetti (ossia quelli trattati sin dall'inizio solo con la MT, quelli trattati prima con un trattamento placebo e poi solamente con la MT e quelli trattati prima con un trattamento di immaginazione motoria e poi soltanto con la MT) si è spostata ben al di sotto del punteggio mediano sull'intensità del dolore presente in tutti e tre i gruppi alla baseline dell'esperimento, con una prevalenza per il gruppo che aveva praticato sin da subito la Mirror Therapy. Quindi questo dimostra in modo abbastanza chiaro come solamente la Mirror Therapy abbia avuto un effetto sulla variabilità dell'intensità dolorifica. Tuttavia, non è chiaro come mai l'immaginazione mentale non abbia evocato alcun effetto.

Immaginazione motoria

Lo studio di MacIver et al. (2008) offre dei risultati molto diversi da quanto evidenziato da Chen et al. (2007) mostrando come la sola immaginazione mentale, se adeguatamente praticata, sia di per sé in grado di invertire i cambiamenti plastici indotti dall'amputazione chirurgica. Lo studio di MacIver et al. (2008) ha infatti registrato tramite un'indagine fMRI (Risonanza Magnetica Funzionale) delle modificazioni a livello delle mappe corticali di alcuni pazienti con un'amputazione unilaterale dell'arto superiore e con PLP ectopico (presente cioè sia durante il movimento della mano che delle labbra) dopo un periodo di terapia meditativa ed immaginativa. I ricercatori avevano, infatti, bisogno che i soggetti eseguissero delle azioni motorie con l'arto fantasma in modo preciso, senza brusche interruzioni; era quindi necessario creare uno stato di moderato rilassamento. Secondo gli autori questo avrebbe persino potenziato l'effetto analgesico dell'immaginazione mentale, coerentemente a quanto evidenziato da Kabat-Zinn et al. (1985). Dopo la prima scansione con fMRI, in cui si andava a valutare l'estensione delle mappe corticali relative all'area del viso per tre compiti diversi (increspatura delle labbra, apertura e chiusura della mano sana ed immaginazione motoria con l'arto fantasma), tutti i partecipanti sono stati quindi chiamati a svolgere delle sessioni di terapia di 40 minuti alla settimana (MacIver et al., 2008). La terapia proposta consisteva essenzialmente in tecniche di immaginazione motoria dell'arto amputato dopo un momento di rilassamento secondo la tecnica meditativa del body-scan, in cui il soggetto doveva "scansionare" attentamente le sensazioni provenienti da ciascuna area del corpo, inclusa quella amputata. Già dalle prime sedute si è visto come questa combinazione aiutava i pazienti a sentirsi più rilassati e a svolgere meglio la terapia di immaginazione motoria. Per raffinare sempre più la tecnica immaginativa ogni paziente, dopo i 40 minuti di terapia, veniva sottoposto ad un briefing di 20 minuti con il proprio terapeuta. Inoltre, durante la prima sessione, veniva dato loro anche un CD per

migliorare quanto appreso durante le sedute. Quindi tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un ulteriore scansione con fMRI mentre eseguivano, assieme ad un gruppo di controllo composto solo da soggetti sani, i soliti tre compiti:

1. Increspare le labbra
2. Aprire e chiudere la mano controlaterale all'amputazione
3. Immaginare un'azione motoria con l'arto fantasma ipsilaterale. Nella fattispecie il soggetto doveva eseguire in modo alternato una chiusura/apertura della mano sana controlaterale e, attraverso l'immaginazione, una chiusura/apertura della mano fantasma ipsilaterale all'amputazione.

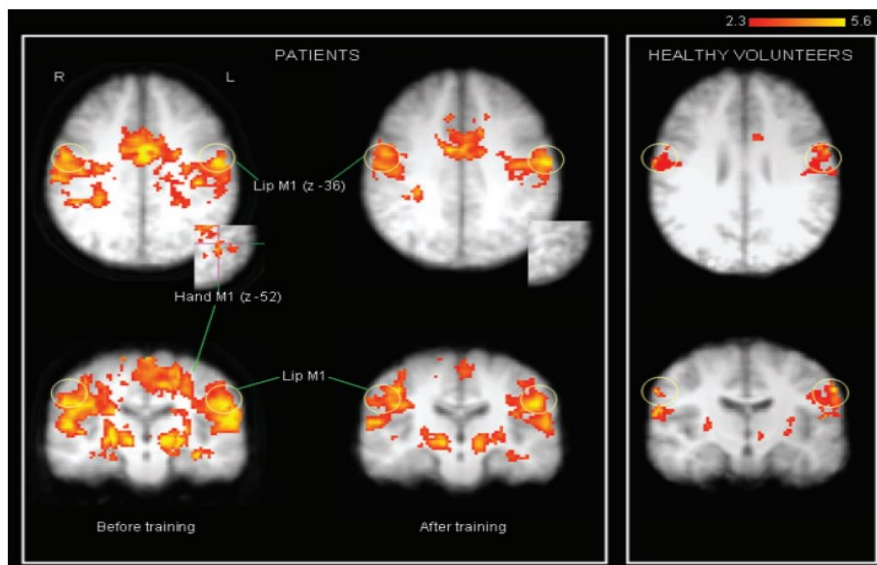


Figura 17. Attivazioni relative all'increspatura delle labbra prima e dopo il trattamento con l'immaginazione mentale: l'area motoria e somatoestesica primaria delle labbra è rappresentata con dei cerchi gialli. Si può vedere come inizialmente l'increspatura delle labbra provoca un'attivazione diffusa anche alla regione di mano. Dopo il training, invece, le attivazioni sono più circoscritte alle aree di bocca. Come si può vedere nella vista assiale l'area di mano non presenta più nessuna attivazione. A destra, invece, i volontari sani di controllo mostrano logicamente un'attivazione per la sola area di bocca (Maclver et al., 2008).

Ebbene, dall'analisi dati complessiva è emerso che dopo il training immaginativo la rappresentazione corticale della mano non era più estesa all'area corticale della bocca (Figura 17) come appariva nella prima scansione e analizzando nel dettaglio anche i questionari clinici per la valutazione del dolore, si può chiaramente vedere come il trattamento abbia in effetti abbassato l'intensità e la spiacevolezza del dolore cronico. Le analisi post-hoc effettuate hanno,

infatti, evidenziato un'evidente correlazione tra la riduzione della riorganizzazione corticale e l'intensità del dolore neuropatico (MacIver et al., 2008). Questi risultati sembrano quindi confermare quanto evidenziato da Lotze et al. (2001) e Flor et al. (2006) riguardo lo stretto rapporto tra PLP e riorganizzazione corticale (MacIver et al., 2008), contribuendo a spiegare l'effetto dell'immaginazione mentale nelle aree motorie e sensoriali. Un altro studio importante da tenere poi in considerazione è senza dubbio quello Limakatso et al. (2020). In figura 18 è possibile osservare lo schema procedurale del trial proposto.

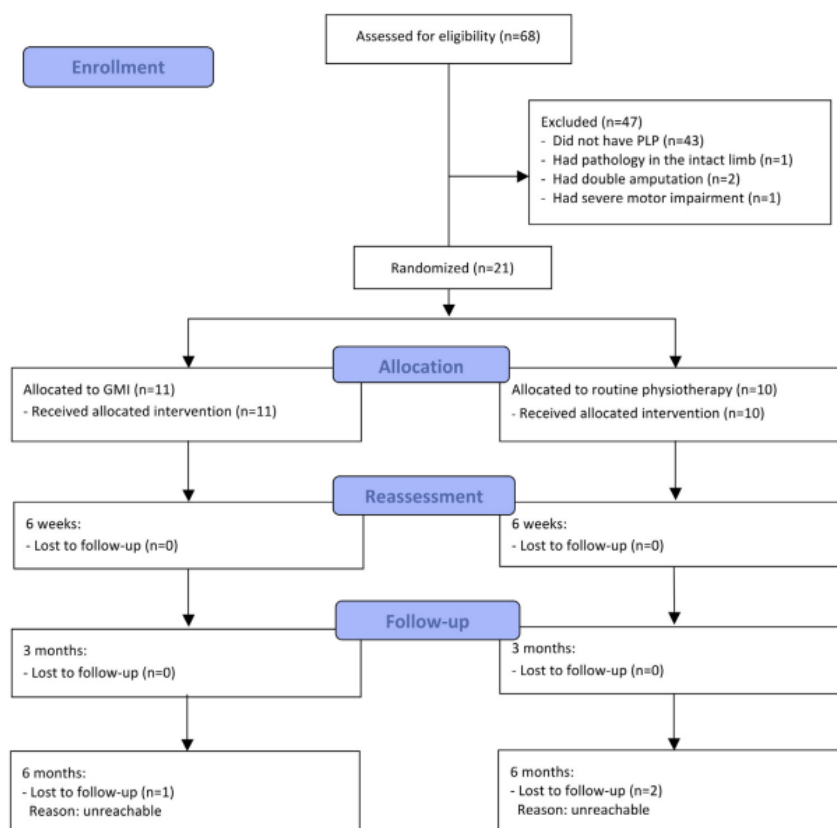


Figura 18. Diagramma procedurale dal reclutamento al follow-up (Limakatso et al., 2020).

Si tratta di uno studio controllato e randomizzato a singolo cieco basato sulla valutazione dell'efficacia della GMI condotto in ben 3 ospedali diversi di Città del Capo, in Sud Africa. I soggetti presi in considerazione erano tutti adulti con più di 18 anni con PLP da amputazione unilaterale all'arto (superiore o inferiore) presente da almeno tre mesi dall'operazione chirurgica. L'ampiezza campionaria era stata fissata ad almeno 18 partecipanti per poter avere

una potenza statistica pari all'80%, tuttavia i ricercatori sono riusciti ad ottenere un campione finale di ben 22 soggetti randomizzati casualmente, dopo una valutazione di base, in due gruppi:

- Gruppo sperimentale: i soggetti di questo gruppo venivano sottoposti ad un trattamento con GMI, una tecnica che prevede una stimolazione graduale della corteccia motoria e delle aree mirror senza però innescare le risposte di dolore. Va precisato però che questa tecnica non è solo immaginazione, infatti, essa si compone di tre fasi:
 - **Discriminazione destra/sinistra:** le persone con PLP sperimentano spesso una difficoltà nel discriminare se le parti del corpo osservate, per esempio in fotografia, appartengano all'area sx o dx del corpo. Questi esercizi implicano una rotazione mentale per far combaciare la propria immagine corporea con l'immagine osservata;
 - **Immaginazione motoria:** viene chiesto di immaginare di eseguire un movimento con l'arto amputato come se esistesse ancora per metterlo nella posizione mostrata nell'immagine di esempio;
 - **Mirror Therapy:** trattamento con riflessione speculare dell'arto sano in una scatola ad hoc per il paziente
- Gruppo di controllo: Trattamento con normale fisioterapia ambulatoriale e/o domiciliare

Ad ogni modo, come già detto, prima di questa randomizzazione è stato necessario raccogliere una valutazione di base, ossia dei dati sull'intensità del PLP e quanto questo si riflettesse sulla loro vita quotidiana. Come prima cosa, quindi, è stato valutata l'intensità del dolore attraverso la scala del dolore BPI (Brief Pain Inventory) che consiste in 4 domande a cui partecipanti devono rispondere con un range numerico che va da 0 a 10, dove 0 corrisponde ad una completa assenza di dolore e 10 al dolore più forte che si possa immaginare (Limakatso et al., 2020). La scala si calcola attraverso la media dei 4 rating con un punteggio massimo, logicamente, di 10 punti. Secondariamente è stata valutata anche la capacità del dolore di interferire con la funzione e la

qualità della vita in riferimento alla salute (Limakatso et al., 2020), usando in un caso la scala di interferenza del dolore del BPI, composta da 7 domande che chiedono a soggetti di valutare da 0 a 10 quanto il dolore va ad interferire con le attività quotidiane, incluso l'umore, il sonno e le relazioni ecc. e nell'altro la VAS (Visual Analogue Scale) che va da 0 (peggior stato di salute possibile) a 100 (miglior stato di salute in assoluto) (Limakatso et al., 2020). I risultati di queste analisi preliminari sono quindi stati raccolti dopo l'assegnazione casuale nei due gruppi ed essendo uno studio a singolo cieco il responsabile della valutazione dei risultati non era assolutamente a conoscenza di quale fosse il gruppo a cui appartenevano i soggetti, così come il medico curante esperto in GMI, che doveva insegnare la pratica riabilitativa al gruppo sperimentale, non era a consapevolezza dei risultati dei suoi pazienti. Infine, tutte le scale sono state nuovamente somministrate una volta terminata la sperimentazione e al follow-up a tre e sei mesi dopo l'intervento (Limakatso et al., 2020). Quello che si è visto è che sia i soggetti del gruppo sperimentale che i soggetti del gruppo di controllo hanno ottenuto dei miglioramenti già dopo 6 settimane di trattamento ($P=0.007$), tuttavia rispetto al gruppo di controllo i soggetti del gruppo sperimentale hanno ottenuto una maggiore riduzione del dolore sia al termine della sperimentazione ($P=0.02$) che al follow up di 6 mesi ($P=0.03$). Inoltre, rispetto al gruppo di controllo, presentavano anche una riduzione dell'interferenza del dolore con la funzione di vita per tutta la durata dell'esperimento e al follow up a 3 e 6 mesi (6 settimane: $P=0.007$; 3 mesi: $P=0.02$; 6 mesi: $P=0.006$), così come un miglioramento statisticamente significativo anche della qualità della vita correlata alla salute (Limakatso et al., 2020). Con i limiti imposti dall'esiguità campionaria, questo studio dimostra come una riabilitazione con GMI sembri essere molto più efficace di una normale fisioterapia; se ci pensiamo, ciò è affascinante perché più del 50% della terapia è basata su dei processi di immaginazione mentale.

Virtual Reality (VR)

Un altro sistema per “scollegare” le connessioni deleterie della corteccia sensitivo-motoria dell’arto amputato è attraverso l’utilizzo della realtà virtuale e della realtà aumentata. Il gruppo di Ortiz-Catalan et al. (2016) ha, infatti, realizzato un arto virtuale che attraverso un algoritmo di intelligenza artificiale potesse essere mosso dal paziente mentre giocava ad un videogame e si è visto come questa tecnica innovativa sia stata effettivamente in grado di favorire una riduzione significativa del PLP.

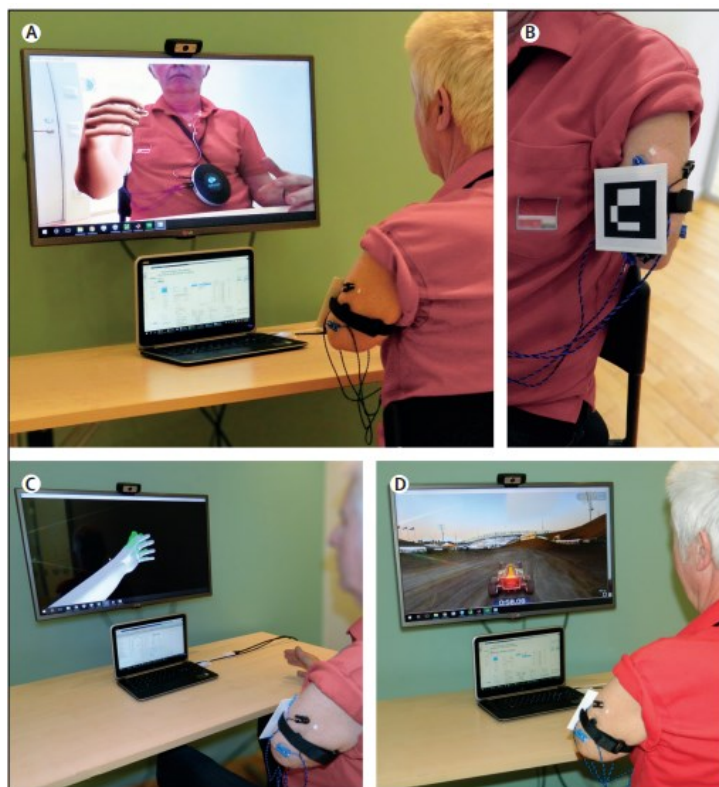


Figura 19. Allenamento dell’arto fantasma con intelligenza artificiale per la decodifica delle intenzioni motorie. A: grazie ad una webcam convenzionale viene trasmessa sul monitor l’immagine del paziente con una ricostruzione digitale dell’arto mancante, come se si trovasse davanti ad uno specchio con ancora il suo arto. B: elettrodi in grado di captare il pattern mioelettrico per poi inviarlo alla rete neurale artificiale per la decodifica. C: il paziente viene invitato ad eseguire determinate posture con l’arto fantasma ricreato digitalmente. D: il paziente muove la macchina di un videogame attraverso il suo braccio fantasma (Ortiz-Catalan et al., 2016).

Come si può vedere in Fig. 19, il paziente aveva attaccato al moncone un sistema di elettrodi, i quali avevano il compito di captare i segnali elettrici delle fibre muscolari ed inviarli ad un complesso algoritmo di *machine learning* per la decodifica dell’intenzione motoria (Ortiz-

Catalan et al., 2016). Tale implementazione è stata possibile perché dal punto di vista neurofisiologico le contrazioni muscolari del moncone sopra il gomito, a seguito di comandi motori veicolati all'avambraccio o alla mano fantasma, non sono casuali ma specifici per lo scopo finale dell'azione. Quindi, addestrando una rete neurale artificiale a riconoscere, per un certo pattern di attivazione muscolare al di sopra del gomito, una specifica intenzione motoria, si è potuto creare un arto virtuale che rispondesse all'effettivo comando motorio del paziente. In questo modo i collegamenti cerebrali che si erano interrotti e che avevano cominciato a riorganizzarsi in modo disadattivo coi centri del dolore, tornerebbero ad attivarsi "scollegandosi" di conseguenza da quelle reti neurali implicate nel PLP. Questa sarebbe verosimilmente la ragione per cui nei soggetti sottoposti allo studio si sarebbe registrata una diminuzione del dolore del 47%. In particolare, per due dei quattro pazienti che a seguito del forte PLP assumevano regolarmente una terapia farmacologica di contenimento, la riduzione è stata così significativa che hanno ridotto l'assunzione di gabapentin dell'81% e di pregabalin del 33% (Ortiz-Catalan et al., 2016); un dato, questo, che deve sicuramente far riflettere. Ora, il grande limite di questo studio è ancora una volta il campione molto ristretto, però osservando un po' la panoramica degli studi col VR condotti negli ultimi anni, ci si può subito rendere conto che benefici di questo tipo sono stati rilevati anche in altri studi simili con campioni decisamente più ampi (Murray et al., 2007; Dunn et al., 2017). Questo, quindi, ci porta a pensare che forse questa tecnica ha davvero un grande potenziale dal punto di vista riabilitativo. Ciò è quanto sostiene il gruppo di Ambron et al. (2018) che, sulla base di queste evidenze, ha condotto recentemente uno studio sull'utilizzo della VR per la riduzione del PLP in due casi clinici. Tutte e due i soggetti erano pazienti con amputazione chirurgica transtibiale effettuata per ridurre il rischio cancrena indotta in un caso da una ferita non cicatrizzante, verosimilmente causata dal diabete, e nell'altro da una vasculopatia periferica. Entrambe i soggetti prima di essere reclutati nello studio avevano provato varie forme di terapia farmacologica senza però mai ottenere alcun

giovanamento. La procedura messa a punto dal gruppo di Ambron et al. (2018) consisteva essenzialmente nel far allenare i due soggetti, per circa un'ora, all'interno di una realtà virtuale in cui potevano cimentarsi in quattro attività:

- Giocare ad un gioco attivo (“Quest for Fire”)
- Navigare in internet usando le gambe virtuali come effettori per controllare il cursore e la navigazione
- Giocare a scacchi con le gambe
- Giocare a dama

Il gioco “Quest for Fire” è stato scelto dai ricercatori perché molto attivo e costringe, quindi, il giocatore a muovere velocemente tutte e due le gambe per spingere delle casse fuori dal proprio cammino e raggiungere così il portale infuocato posto alla fine del labirinto (Ambron et al., 2018). Questa attività veniva fatta fare ai due soggetti obbligatoriamente all'inizio di ogni seduta, mentre gli altri giochi erano invece a libera scelta. Prima e dopo le sedute, inoltre, i partecipanti dovevano valutare l'intensità del dolore su una scala da 0 a 10.

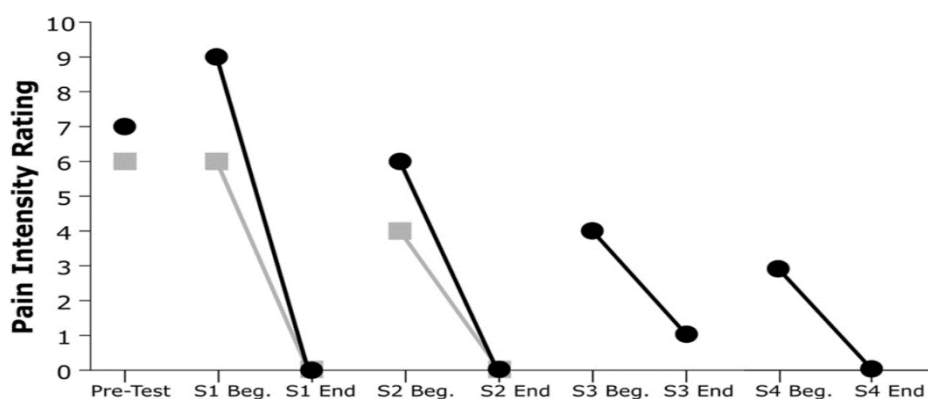


Figura 20. Punteggio alla Pain Inventory Rating dato dai soggetti nel pre-test, all'inizio (S Beg.) e alla fine di ogni sessione (S End). In grigio il soggetto 1 che per motivi di salute non legati all'esperienza ha abbandonato lo studio prima dell'inizio della sessione 3 (S3 Beg.). In nero, invece, il soggetto 2 che ha completato lo studio fino alla sessione 4. Si può vedere come i punteggi tendono a diminuire all'aumentare delle sedute di terapia (Ambron et al., 2018).

Come si può vedere dalla figura 20 il punteggio alla scala per l'intensità del dolore (0-10) dal pre-test al fine di ogni sessione (S End in figura 20) è caratterizzato da un costante calo sia per il soggetto 1 (quadrati grigi della figura 20) e sia per il soggetto 2 (cerchi neri della figura 20).

Osservando meglio i dati si può vedere addirittura come per il soggetto 1 l'intensità del dolore post-sessione, per quel che riguarda la prima e la seconda sessione di terapia con VR, è diminuita del 100% e del 93,7% nel soggetto 2 (Ambron et al., 2018). Quindi questo ci fa capire bene come l'input visivo unito ad un'immersione in una realtà ad hoc per la fisioterapia possa esercitare un forte effetto analgesico nei pazienti con PLP. È chiaro che qua entrano in gioco più aspetti neurofisiologici però è verosimile che alla base dell'analgesia ottenuta in questi due pazienti vi sia ancora una volta il contributo dei neuroni mirror, in quanto il motore della metodologia proposta nello studio è proprio il feedback visivo in prospettiva soggettiva che viene controllato in una situazione ad hoc da parte del paziente stesso. Quindi il paziente vede l'arto e lo muove come se fosse realmente il suo; è chiaro che l'attivazione mirror c'è però logicamente questo non basta. Bisognerebbe, infatti, dimostrare dal punto di vista empirico che sia proprio il sistema mirror a determinare questo sensazionale effetto analgesico, però bisogna anche ricordare che non è così facile capire e dimostrare il funzionamento di meccanismi di questo tipo sull'uomo e a volte questo diventa difficoltoso persino sul modello animale.

Conclusioni

Alla luce dei dati esposti nei capitoli precedenti e, in particolar modo negli ultimi paragrafi, possiamo dire che sia la mirror box, sia il VR che l'immaginazione mentale mostrano un interessante effetto analgesico nei confronti dei pazienti affetti da PLP. Tuttavia, risulta ancora difficile poter stabilire con certezza la loro efficacia a seguito del basso numero di partecipanti utilizzati nelle sperimentazioni (Colmenero et al., 2018). Infatti, il grande limite di tutti gli studi affrontati in questo elaborato è proprio l'esiguità campionaria che ne impedisce l'estensione all'intera popolazione. Quindi, in altre parole, diventa veramente difficile poter fare delle considerazioni cliniche. È chiaro che i risultati sono incoraggianti e sicuramente questo deve far riflettere però da scienziati non possiamo ancora considerare queste tecniche clinicamente valide al 100%. Servono più studi randomizzati, con campioni più ampi e metodologie adeguate. Tutte variabili non impossibili ma sicuramente non semplici da perseguire, tenendo conto anche del fatto che ciò che sappiamo davvero di questa patologia è molto poco; nulla se paragonato alla maggior parte delle patologie mediche il che deve sicuramente indurre un'attenta riflessione da parte della comunità scientifica. Come affrontato nel corso della mia tesi di laurea molti autori sostengono che tutte queste tecniche, in modo più o meno incisivo, funzionano perché andrebbero ad agire a livello dei neuroni mirror, però non è chiaro come questo processo possa portare ad una riduzione del fantasma. All'inizio del capitolo 3 era stata affrontata l'ipotesi neurofisiologica che i neuroni mirror potessero giocare un ruolo nel mantenimento di un certo schema corporeo, facilitando le manifestazioni fantasma negli amputati. In particolar modo, secondo Giummarra et al. (2007) sarebbe probabilmente l'osservazione di altri soggetti non amputati e quindi l'attivazione del sistema mirror per l'osservazione delle loro azioni ad evocare una sensazione fantasma. Ebbene, ammesso che sia vero, come mai allora la mirror therapy sembra manifestare un effetto analgesico nei confronti del PLP? Cioè, se consideriamo come vera l'ipotesi di questi autori, secondo cui l'osservazione

di altri soggetti non amputati potrebbe verosimilmente favorire la genesi e il mantenimento di un arto fantasma, allora come mai una terapia basata sull'osservazione del proprio arto riflesso sembra avere un effetto contrario? O la tesi di questi autori non è del tutto corretta oppure la risposta potrebbe avere a che fare con il fatto che le prospettive di osservazione sono diverse. Cioè, in un caso il soggetto vede gli arti di altri agenti con una prospettiva di 180°, quindi con una prospettiva frontale, mentre nell'altro (durante le riabilitazioni) la prospettiva di osservazione è quasi sempre a 0°, ossia in prima persona. E anche se nella prima parte della GMI il paziente vede immagini con una prospettiva frontale, comunque il compito è di compiere una rotazione mentale, quindi è verosimile che vengano stimolati più i neuroni sensibili alla prospettiva soggettiva che a quella frontale. Si potrebbe ipotizzare, quindi, che la sensibilità alla prospettiva di osservazione di alcune categorie di neuroni mirror possa avere un ruolo nel favorire la creazione o la dissoluzione del fantasma a seconda che l'arto osservato sia in prima persona o in prospettiva frontale. Ora, se ci pensiamo, è chiaro che venendo meno l'input visivo negli amputati, e quindi la visione in prima persona del proprio arto, questo possa generare dei cambiamenti plastici in alcuni di quei neuroni che prima si attivavano solo ed esclusivamente per atti osservati in prima persona con quell'arto che ora non c'è più. In linea puramente teoria si potrebbe, quindi, ipotizzare che anomalie nella modificazione plastica di questi mirror prospettiva dipendenti, potrebbero facilitare il processo neurofisiologico alla base di una percezione fantasma dell'arto amputato, con scariche spontanee di dolore rafforzate dall'osservazione degli altri. Ma ovviamente queste sono tutte ipotesi peraltro correlate ad un assunto teorico avanzato dal gruppo di Giummarra et al. (2007) che ancora però non è stato adeguatamente preso in considerazione dal punto di vista empirico; quindi, è difficile capire se quanto detto sia davvero plausibile. Del resto, il compito di questa tesi magistrale non è mai stato quello di delineare certezze, ma piuttosto quello di evocare nuovi interrogativi di ricerca riguardo un mistero della neurofisiologia e della psicologia del dolore ancora oggi irrisolto.

Bibliografia

- Aglioti, S. M., Cesari, P., Romani, M., & Urgesi, C. (2008). Action anticipation and motor resonance in elite basketball players. *Nature Neuroscience*, *11*(9), 1109–1116. <https://doi.org/10.1038/nn.2182>
- Allard, T., Clark, S. A., Jenkins, W. M., & Merzenich, M. M. (1991). Reorganization of somatosensory area 3b representations in adult owl monkeys after digital syndactyly. *Journal of Neurophysiology*, *66*(3), 1048–1058. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.66.3.1048>
- Ambron, E., Miller, A. L., Kuchenbecker, K. J., Buxbaum, L. J., & Coslett, H. B. (2018). Immersive Low-Cost Virtual Reality Treatment for Phantom Limb Pain: Evidence from Two Cases. *Frontiers in Neurology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00067>
- Anderson-Barnes, V. C., McAuliffe, C. L., Swanberg, K. M., & Tsao, J. W. (2009). Phantom limb pain – A phenomenon of proprioceptive memory? *Medical Hypotheses*, *73*(4), 555–558. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.05.038>
- Barbin, J., Seetha, V., Casillas, J. M., Paysant, J., & Pérennou, D. (2016). The effects of mirror therapy on pain and motor control of phantom limb in amputees: A systematic review. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, *59*(4), 270–275. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2016.04.001>
- Batsford, S., Ryan, C. G., & Martin, D. J. (2017). Non-pharmacological conservative therapy for phantom limb pain: A systematic review of randomized controlled trials. *Physiotherapy theory and practice*, *33*(3), 173–183. <https://doi.org/10.1080/09593985.2017.1288283>
- Berlucchi, G., & Aglioti, S. M. (1997). The body in the brain: neural bases of corporeal awareness. *Trends in Neurosciences*, *20*(12), 560–564. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(97\)01136-3](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(97)01136-3)
- Bors, E. (1951). PHANTOM LIMBS OF PATIENTS WITH SPINAL CORD INJURY. *Archives of Neurology and Psychiatry*, *66*(5), 610. <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1951.02320110075007>
- Brodie, E. E., Whyte, A., & Niven, C. A. (2007). Analgesia through the looking-glass? A randomized controlled trial investigating the effect of viewing a ‘virtual’ limb upon phantom limb pain, sensation and movement. *European Journal of Pain*, *11*(4), 428–436. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2006.06.002>
- Bromage, P. R., & Melzack, R. (1974). Phantom limbs and the body schema. *The Canadian Anaesthetists' Society Journal*, *21*(3), 267–274. <https://doi.org/10.1007/bf03005731>

- Brugger, P., Kollias, S., Müri, R. M., Crelier, G., Hepp-Reymond, M., & Regard, M. (2000). Beyond re-membering: Phantom sensations of congenitally absent limbs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(11), 6167–6172. <https://doi.org/10.1073/pnas.100510697>
- Buccino, G., Vogt, S., Ritzl, A., Fink, G. R., Zilles, K., Freund, H. J., & Rizzolatti, G. (2004). Neural circuits underlying imitation learning of hand actions: an event-related fMRI study. *Neuron*, 42(2), 323–334. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(04\)00181-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(04)00181-3)
- Buonomano, D. V., & Merzenich, M. M. (1998). CORTICAL PLASTICITY: From synapses to maps. *Annual Review of Neuroscience*, 21(1), 149–186. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.21.1.149>
- Caggiano, V., Fogassi, L., Rizzolatti, G., Pomper, J. K., Thier, P., Giese, M. A., & Casile, A. (2011). View-Based encoding of actions in mirror neurons of area F5 in macaque premotor cortex. *Current Biology*, 21(2), 144–148. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.12.022>
- Chan, B. L., Witt, R. L., Charrow, A., Magee, A., Howard, R. S., Pasquina, P. F., Heilman, K. M., & Tsao, J. W. (2007). Mirror therapy for phantom limb pain. *The New England Journal of Medicine*, 357(21), 2206–2207. <https://doi.org/10.1056/nejmc071927>
- Clark, S. A., Allard, T., Jenkins, W. M., & Merzenich, M. M. (1988). Receptive fields in the body-surface map in adult cortex defined by temporally correlated inputs. *Nature*, 332(6163), 444–445. <https://doi.org/10.1038/332444a0>
- Collins, K., McKean, D., Huff, K., Tommerdahl, M., Favorov, O. V., Waters, R. S., & Tsao, J. W. (2017). Hand-to-Face Remapping But No Differences in Temporal Discrimination Observed on the Intact Hand Following Unilateral Upper Limb Amputation. *Frontiers in Neurology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00008>
- Colmenero, L. H., Pérez-Mármol, J. M., Martí-García, C., De Los Ángeles Querol Zaldivar, M., Tapia-Haro, R. M., Castro-Sánchez, A. M., & Aguilar-Ferrándiz, M. E. (2018). Effectiveness of mirror therapy, motor imagery, and virtual feedback on phantom limb pain following amputation. *Prosthetics and Orthotics International*, 42(3), 288–298. <https://doi.org/10.1177/0309364617740230>
- Conomy, J. P. (1973). Disorders of body image after spinal cord injury. *Neurology*, 23(8), 842. <https://doi.org/10.1212/wnl.23.8.842>
- De Gelder, B., Tamietto, M., Van Boxtel, G., Goebel, R., Sahraie, A., Van Den Stock, J., Stienen, B. M. C., Weiskrantz, L., & Pegna, A. J. (2008). Intact navigation skills after bilateral loss of striate cortex. *Current Biology*, 18(24), R1128–R1129. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.11.002>
- De Roos, C., Veenstra, A., De Jongh, A., Hollander-Gijsman, M. D., Van Der Wee, N., Fg, Z., & Van Rood, Y. (2010). Treatment of chronic phantom limb pain using a Trauma-Focused psychological approach. *Pain Research & Management*, 15(2), 65–71. <https://doi.org/10.1155/2010/981634>

- Desmond, D., & MacLachlan, M. (2006). Affective Distress and Amputation-Related Pain Among Older Men with Long-Term, Traumatic Limb Amputations. *Journal of Pain and Symptom Management*, 31(4), 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2005.08.014>
- Diamond, M. C., Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., Lindner, B., & Lyon, L. (1972). Effects of environmental enrichment and impoverishment on rat cerebral cortex. *Journal of Neurobiology*, 3(1), 47–64. <https://doi.org/10.1002/neu.480030105>
- Dunn, J., Yeo, E., Moghaddampour, P., Chau, B., & Humbert, S. (2017). Virtual and augmented reality in the treatment of phantom limb pain: A literature review. *NeuroRehabilitation*, 40(4), 595–601. <https://doi.org/10.3233/nre-171447>
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*, 4(11), 1313–1317. <https://doi.org/10.1038/3305>
- Ertelt, D., Small, S. L., 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, T164–T173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.03.043>
- Ettlín, T. M., Seiler, W., & Kaeser, H. E. (1980). Phantom and amputation illusions in paraplegic patients. *European Neurology*, 19(1), 12–19. <https://doi.org/10.1159/000115122>
- Feldman, R. S. (2017). *Psicologia generale*. McGraw-Hill Editore
- Ferrari, P. F., Rozzi, S., & Fogassi, L. (2005). Mirror Neurons Responding to Observation of Actions Made with Tools in Monkey Ventral Premotor Cortex. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 17(2), 212–226. <https://doi.org/10.1162/0898929053124910>
- Finn, S., Perry, B. N., Clasing, J. E., Walters, L. S., Jarzombek, S. L., Curran, S., Rouhanian, M., Keszler, M. S., Hussey-Andersen, L. K., Weeks, S. R., Pasquina, P. F., & Tsao, J. W. (2017). A randomized, controlled trial of mirror therapy for upper extremity phantom limb pain in male amputees. *Frontiers in Neurology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00267>
- Flor H. (2002). Phantom-limb pain: characteristics, causes, and treatment. *The Lancet. Neurology*, 1(3), 182–189. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(02\)00074-1](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(02)00074-1)
- Flor, H., Nikolajsen, L., & Staehelin Jensen, T. (2006). Phantom limb pain: a case of maladaptive CNS plasticity?. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(11), 873–881. <https://doi.org/10.1038/nrn1991>

- Fogassi, L., Gallese, V., Fadiga, L., Luppino, G., Matelli, M., & Rizzolatti, G. (1996). Coding of peripersonal space in inferior premotor cortex (area F4). *Journal of Neurophysiology*, 76(1), 141–157. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.1.141>
- Fuchs, X., Flor, H., & Bekrater-Bodmann, R. (2018). Psychological Factors Associated with Phantom Limb Pain: A Review of Recent Findings. *Pain Research & Management*, 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/5080123>
- Gallagher, S., Butterworth, G., Lew, A. R., & Cole, J. (1998). Hand–Mouth coordination, congenital absence of limb, and evidence for innate body schemas. *Brain and Cognition*, 38(1), 53–65. <https://doi.org/10.1006/brcg.1998.1020>
- Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (1996). Action recognition in the premotor cortex. *Brain*, 119(2), 593–609. <https://doi.org/10.1093/brain/119.2.593>
- García, E. G. (2018). *Siamo la nostra memoria: ricordare e dimenticare*. Hachette Editore
- Gauthier, S., Reisberg, B., Zaudig, M., Petersen, R. C., Ritchie, K., Broich, K., Belleville, S., Brodaty, H., Bennett, D. A., Chertkow, H., Cummings, J. L., De Leon, M. J., Feldman, H., Ganguli, M., Hampel, H., Scheltens, P., Tierney, M. C., Whitehouse, P. J., & Winblad, B. (2006). Mild cognitive impairment. *The Lancet*, 367(9518), 1262–1270. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(06\)68542-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(06)68542-5)
- Gazzola, V., Van Der Worp, H., Mulder, T., Wicker, B., Rizzolatti, G., & Keysers, C. (2007). Aphasics Born without Hands Mirror the Goal of Hand Actions with Their Feet. *Current Biology*, 17(14), 1235–1240. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.045>
- Gentili, M. E., Verton, C., Kinirons, B., & Bonnet, F. (2002a). Clinical perception of phantom limb sensation in patients with brachial plexus block. *European Journal of Anaesthesiology*, 19(02), 105. <https://doi.org/10.1017/s0265021502000182>
- Giummarra, M. J., Gibson, S., Georgiou-Karistianis, N., & Bradshaw, J. L. (2007). Central mechanisms in phantom limb perception: The past, present and future. *Brain Research Reviews*, 54(1), 219–232. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.01.009>
- Globus, A., Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., & Diamond, M. C. (1973). Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 82(2), 175–181. <https://doi.org/10.1037/h0033910>
- Gregoriou, G. G., Borra, E., Matelli, M., & Luppino, G. (2006). Architectonic organization of the inferior parietal convexity of the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 496(3), 422–451. <https://doi.org/10.1002/cne.20933>
- Guémann, M., Olié, E., Raquin, L., Courtet, P., & Risch, N. (2023). Effect of mirror therapy in the treatment of phantom limb pain in amputees: A systematic review of randomized placebo-controlled trials does not find any evidence of efficacy. *European journal of pain (London, England)*, 27(1), 3–13. <https://doi.org/10.1002/ejp.2035>

- Hihara, S., Notoya, T., Tanaka, M., Ichinose, S., Ojima, H., Obayashi, S., Fujii, N., & Iriki, A. (2006). Extension of corticocortical afferents into the anterior bank of the intraparietal sulcus by tool-use training in adult monkeys. *Neuropsychologia*, *44*(13), 2636–2646. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2005.11.020>
- Hill, A. (1999). Phantom limb pain. *Journal of Pain and Symptom Management*, *17*(2), 125–142. [https://doi.org/10.1016/s0885-3924\(98\)00136-5](https://doi.org/10.1016/s0885-3924(98)00136-5)
- Hubel, D. H., & Wiesel, T. N. (2012). David Hubel and Torsten Wiesel. *Neuron*, *75*(2), 182–184. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.07.002>
- Humphrey, N. (1974). Vision in a Monkey without Striate Cortex: A Case Study. *Perception*, *3*(3), 241–255. <https://doi.org/10.1068/p030241>
- Humphrey, N., & Weiskrantz, L. (1967). Vision in Monkeys after Removal of the Striate Cortex. *Nature*, *215*(5101), 595–597. <https://doi.org/10.1038/215595a0>
- Iriki, A., Tanaka, M., & Iwamura, Y. (1996). Coding of modified body schema during tool use by macaque postcentral neurones. *Neuroreport*, *7*(14), 2325–2330. <https://doi.org/10.1097/00001756-199610020-00010>
- Jeannerod, M. (1981). Specialized channels for cognitive responses. *Cognition*, *10*(1–3), 135–137. [https://doi.org/10.1016/0010-0277\(81\)90036-6](https://doi.org/10.1016/0010-0277(81)90036-6)
- Kabat-Zinn, J., Lipworth, L., & Burney, R. (1985). The clinical use of mindfulness meditation for the self-regulation of chronic pain. *Journal of Behavioral Medicine*, *8*(2), 163–190. <https://doi.org/10.1007/bf00845519>
- Kandel, E. R. (2001). NOBEL LECTURE: The Molecular Biology of Memory Storage: A dialog between Genes and synapses. *Bioscience Reports*, *21*(5), 565–611. <https://doi.org/10.1023/a:1014775008533>
- Kandel, E. R., & Spencer, W. A. (1968). Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. *Physiological Reviews*, *48*(1), 65–134. <https://doi.org/10.1152/physrev.1968.48.1.65>
- Kohler, E., Keysers, C., Umiltà, M. A., Fogassi, L., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2002). Hearing sounds, understanding actions: action representation in mirror neurons. *Science*, *297*(5582), 846–848. <https://doi.org/10.1126/science.1070311>
- Krech, D., Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1960). Effects of environmental complexity and training on brain chemistry. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *53*(6), 509–519. <https://doi.org/10.1037/h0045402>
- Lenggenhager, B., Arnold, C., & Giummarra, M. J. (2014). Phantom limbs: pain, embodiment, and scientific advances in integrative therapies. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, *5*(2), 221–231. <https://doi.org/10.1002/wcs.1277>

- Levi-Montalcini, R. (1987). The nerve growth factor: thirty-five years later. *The EMBO Journal*, 6(5), 1145–1154. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1987.tb02347.x>
- Lieberwirth, C., Liu, Y., Jia, X., & Wang, Z. (2012). Social isolation impairs adult neurogenesis in the limbic system and alters behaviors in female prairie voles. *Hormones and Behavior*, 62(4), 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.03.005>
- Limakatso, K., Bedwell, G. J., Madden, V. J., & Parker, R. (2020). The prevalence and risk factors for phantom limb pain in people with amputations: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, 15(10), e0240431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240431>
- Limakatso, K., Madden, V. J., Manie, S., & Parker, R. (2020). The effectiveness of graded motor imagery for reducing phantom limb pain in amputees: a randomised controlled trial. *Physiotherapy*, 109, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2019.06.009>
- Lotze, M., Flor, H., Grodd, W., Larbig, W., & Birbaumer, N. (2001). Phantom movements and pain. An fMRI study in upper limb amputees. *Brain : a journal of neurology*, 124(Pt 11), 2268–2277. <https://doi.org/10.1093/brain/124.11.2268>
- MacIver, K., Lloyd, D. M., Kelly, S., Roberts, N., & Nurmikko, T. (2008). Phantom limb pain, cortical reorganization and the therapeutic effect of mental imagery. *Brain*, 131(8), 2181–2191. <https://doi.org/10.1093/brain/awn124>
- Magariños, A. M., McEwen, B. S., Flügge, G., & Fuchs, E. (1996). Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *The Journal of Neuroscience*, 16(10), 3534–3540. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-10-03534.1996>
- Makris, S., & Urgesi, C. (2014). Neural underpinnings of superior action prediction abilities in soccer players. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 10(3), 342–351. <https://doi.org/10.1093/scan/nsu052>
- Mekbib, D. B., Debeli, D. K., Zhang, L., Fang, S., Shao, Y., Yang, W., Han, J., Jiang, H., Zhu, J., Zhao, Z., Cheng, R., Ye, X., Zhang, J., & Xu, D. (2021). A novel fully immersive virtual reality environment for upper extremity rehabilitation in patients with stroke. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1493(1), 75–89. <https://doi.org/10.1111/nyas.14554>
- Melzack, R. (1990). Phantom limbs and the concept of a neuromatrix. *Trends in Neurosciences*, 13(3), 88–92. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90179-e](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90179-e)
- Melzack, R. (1992). Phantom limbs. *Scientific American*, 266(4), 120–125. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0492-120>
- Melzack, R. (1996). Gate control theory. *Pain Forum*, 5(2), 128–138. [https://doi.org/10.1016/s1082-3174\(96\)80050-x](https://doi.org/10.1016/s1082-3174(96)80050-x)

- Melzack, R. (1999). From the gate to the neuromatrix. *Pain*, 82(Supplement 1), S121–S126. [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(99\)00145-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(99)00145-1)
- Merzenich, M. M. (2013). *Soft-wired: How the New Science of Brain Plasticity Can Change Your Life*. Parnasso Publishing Editore.
- Merzenich, M. M., Nelson, R. J., Stryker, M. P., Cynader, M. S., Schoppmann, A., & Zook, J. M. (1984). Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 224(4), 591–605. <https://doi.org/10.1002/cne.902240408>
- Miyazawa, N., Hayashi, M., Komiya, K., & Akiyama, I. (2004). Supernumerary Phantom Limbs Associated with Left Hemispheric Stroke: Case Report and Review of the Literature. *Neurosurgery*, 54(1), 228–231. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000097558.01639.f5>
- Murray, C., Pettifer, S., Howard, T., Patchick, E., Caillette, F., Kulkarni, J., & Bamford, C. (2007). The treatment of phantom limb pain using immersive virtual reality: Three case studies. *Disability and Rehabilitation*, 29(18), 1465–1469. <https://doi.org/10.1080/09638280601107385>
- Ortiz-Catalan, M., Gudmundsdottir, R. A., Kristoffersen, M., Zepeda-Echavarria, A., Caine-Winterberger, K., Kulbacka-Ortiz, K., Widehammar, C., Eriksson, K., Stocksélius, A., Ragnö, C., Pihlar, Z., Burger, H., & Hermansson, L. (2016). Phantom motor execution facilitated by machine learning and augmented reality as treatment for phantom limb pain: a single group, clinical trial in patients with chronic intractable phantom limb pain. *The Lancet*, 388(10062), 2885–2894. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31598-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31598-7)
- Paolini, S., Bazzini, M. C., Rossini, M., De Marco, D., Nuara, A., Presti, P., Scalona, E., Avanzini, P., & Fabbri-Destro, M. (2023). Kicking in or kicking out? The role of the individual motor expertise in predicting the outcome of rugby actions. *Frontiers in Psychology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1122236>
- Pascual-Leone, A., Nguyet, D., Cohen, L. G., Brasil-Neto, J. P., Cammarota, A., & Hallett, M. (1995). Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *Journal of Neurophysiology*, 74(3), 1037–1045. <https://doi.org/10.1152/jn.1995.74.3.1037>
- Patel, M. (2017). Action observation in the modification of postural sway and gait: Theory and use in rehabilitation. *Gait & Posture*, 58, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2017.07.113>
- Pazzaglia, M., Scivoletto, G., Giannini, A. M., & Leemhuis, E. (2018). My hand in my ear: a phantom limb re-induced by the illusion of body ownership in a patient with a brachial plexus lesion. *Psychological Research-psychologische Forschung*, 83(1), 196–204. <https://doi.org/10.1007/s00426-018-1121-5>
- Plumbe, L., Peters, S. E., Bennett, S., Vicenzino, B., & Coppieters, M. W. (2013). Mirror therapy, graded motor imagery and virtual illusion for the management of

chronic pain. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
<https://doi.org/10.1002/14651858.cd010329>

- Purves, D. (2004). *Neuroscience*. Sinauer Associates Incorporated.
- Ramachandran, V. S., & Hirstein, W. (1998). The perception of phantom limbs. The D. O. Hebb lecture. *Brain*, *121*(9), 1603–1630.
<https://doi.org/10.1093/brain/121.9.1603>
- Ramachandran, V. S., & Rogers-Ramachandran, D. (2008). Sensations referred to a patient's phantom arm from another subjects intact arm: Perceptual correlates of mirror neurons. *Medical Hypotheses*, *70*(6), 1233–1234.
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2008.01.008>
- Ramadugu, S., Nagabushnam, S. C., Katuwal, N., & Chatterjee, K. (2018). Intervention for phantom limb pain: A randomized single crossover study of mirror therapy. *PubMed*, *59*(4), 457–464.
https://doi.org/10.4103/psychiatry.indianjpsychiatry_259_16
- Rizzolatti, G., & Luppino, G. (2001). The cortical motor system. *Neuron*, *31*(6), 889–901. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00423-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00423-8)
- Rizzolatti, G., Camarda, R., Fogassi, L., Gentilucci, M., Luppino, G., & Matelli, M. (1988). Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey. *Experimental Brain Research*, *71*(3), 491–507. <https://doi.org/10.1007/bf00248742>
- Rizzolatti, G., Fadiga, L., Fogassi, L., & Gallese, V. (1999). Resonance behaviors and mirror neurons. *PubMed*, *137*(2–3), 85–100.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10349488>
- Rizzolatti, G., Fadiga, L., Gallese, V., & Fogassi, L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cognitive Brain Research*, *3*(2), 131–141.
[https://doi.org/10.1016/0926-6410\(95\)00038-0](https://doi.org/10.1016/0926-6410(95)00038-0)
- Rosenzweig, M. R. (1966). Environmental complexity, cerebral change, and behavior. *American Psychologist*, *21*(4), 321–332. <https://doi.org/10.1037/h0023555>
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1969). Effects of differential environments on brain weights and enzyme activities in gerbils, rats, and mice. *Developmental Psychobiology*, *2*(2), 87–95. <https://doi.org/10.1002/dev.420020208>
- Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., & Diamond, M. C. (1972). Brain changes in response to experience. *Scientific American*, *226*(2), 22–29.
<https://doi.org/10.1038/scientificamerican0272-22>
- Rothgangel, A., Braun, S., Beurskens, A., Seitz, R., & Wade, D. T. (2011). The clinical aspects of mirror therapy in rehabilitation. *International Journal of Rehabilitation Research*, *34*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1097/mrr.0b013e3283441e98>

- Rothgangel, A., Braun, S., Winkens, B., Beurskens, A., & Smeets, R. (2018). Traditional and augmented reality mirror therapy for patients with chronic phantom limb pain (PACT study): results of a three-group, multicentre single-blind randomized controlled trial. *Clinical Rehabilitation*, 32(12), 1591–1608. <https://doi.org/10.1177/0269215518785948>
- Rozzi, S., Calzavara, R., Belmalih, A., Borra, E., Gregoriou, G. G., Matelli, M., & Luppino, G. (2006). Cortical connections of the inferior parietal cortical convexity of the macaque monkey. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(10), 1389–1417. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj076>
- Sapolsky, R. M. (1990). Adrenocortical function, social rank, and personality among wild baboons. *Biological Psychiatry*, 28(10), 862–878. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(90\)90568-m](https://doi.org/10.1016/0006-3223(90)90568-m)
- Schaefer, M., Flor, H., Heinze, H., & Rotte, M. (2007). Morphing the body: Illusory feeling of an elongated arm affects somatosensory homunculus. *NeuroImage*, 36(3), 700–705. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.03.046>
- Stankevicius, A., Wallwork, S. B., Summers, S. J., Hordacre, B., & Stanton, T. R. (2020). Prevalence and incidence of phantom limb pain, phantom limb sensations and telescoping in amputees: A systematic rapid review. *European Journal of Pain*, 25(1), 23–38. <https://doi.org/10.1002/ejp.1657>
- Stowe, J. R., Liu, Y., Curtis, J. T., Freeman, M. E., & Wang, Z. (2005). Species differences in anxiety-related responses in male prairie and meadow voles: The effects of social isolation. *Physiology & Behavior*, 86(3), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.007>
- Thieme, H., Morkisch, N., Mehrholz, J., Pohl, M., Behrens, J., Borgetto, B., & Dohle, C. (2018). Mirror therapy for improving motor function after stroke. *The Cochrane Library*, 2018(7). <https://doi.org/10.1002/14651858.cd008449.pub3>
- Thøgersen, M., Hansen, J. H. L., Arendt-Nielsen, L., Flor, H., & Petrini, L. (2018). Removing own-limb visual input using mixed reality (MR) produces a “telescoping” illusion in healthy individuals. *Behavioural Brain Research*, 347, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.03.024>
- Turk, D. C. (2002). A Diathesis-Stress Model of Chronic Pain and Disability following Traumatic Injury. *Pain Research & Management*, 7(1), 9–19. <https://doi.org/10.1155/2002/252904>
- Umiltà, M. A., Escola, L., Intskirveli, I., Grammont, F., Rochat, M. J., Caruana, F., Jezzini, A., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2008). When pliers become fingers in the monkey motor system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(6), 2209–2213. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705985105>
- Umiltà, M. A., Kohler, E., Gallese, V., Fogassi, L., Fadiga, L., Keysers, C., & Rizzolatti, G. (2001). I know what you are doing. *Neuron*, 31(1), 155–165. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00337-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00337-3)

- Wang, F., Zhang, R., Zhang, J., Li, D., Wang, Y., Yang, Y., & Wei, Q. (2021). Effects of mirror therapy on phantom limb sensation and phantom limb pain in amputees: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Rehabilitation*, 35(12), 1710–1721. <https://doi.org/10.1177/02692155211027332>
- West, R. W., & Greenough, W. T. (1972). Effect of environmental complexity on cortical synapses of rats: Preliminary results. *Behavioral Biology*, 7(2), 279–284. [https://doi.org/10.1016/s0091-6773\(72\)80207-4](https://doi.org/10.1016/s0091-6773(72)80207-4)
- Whishaw, I. Q., Karl, J. M., & Humphrey, N. (2016). Dissociation of the Reach and the Grasp in the destriate (V1) monkey Helen: a new anatomy for the dual visuomotor channel theory of reaching. *Experimental Brain Research*, 234(8), 2351–2362. <https://doi.org/10.1007/s00221-016-4640-6>