



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

RELAZIONE FINALE RICERCA FINALIZZATA

Istituto/D.I.	IRCCS Fondazione Mondino		
Titolo ricerca	NEUROMODULATION STRATEGIES TO ENHANCE THE EFFECTS OF GAIT REHABILITATION IN MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS WITH CEREBELLAR ATAXIA		
Responsabile	Silvia Colnaghi		
Data convenzione	17/10/2014		
Cod. ricerca	GR - 2011 - 02348985		
Data inizio	15/11/2014	Data fine autorizzata	14/11/2018

Relazione Finale	Data Compilazione: 10/01/2019
-------------------------	--------------------------------------

A Unità Operative partecipanti
1) IRCCS Fondazione Mondino - Pavia 2) IRCCS S. Lucia - Roma

B. Obiettivi del progetto
<p>1) Valutare la sicurezza e l'efficacia clinica dell'applicazione di diverse sessioni di stimolazione non invasiva del cervelletto (i.e. stimolazione magnetica transcranica intermittente cerebellare - iTBS) e della terapia farmacologica con 4-aminopiridina (4-AP) a rilascio prolungato nell'incrementare gli effetti della riabilitazione del cammino in uno studio clinico controllato, randomizzato, in doppio cieco in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) con atassia cerebellare.</p> <p>2) Studiare e valutare se l'applicazione di una singola sessione di iTBS o la somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato possano essere associate a cambiamenti comportamentali nell'esecuzione di un task di apprendimento visuo-motorio oppure a cambiamenti neurofisiologici dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali in un gruppo di pazienti con diagnosi di SM con atassia cerebellare, confrontati con un gruppo di soggetti di controllo di pari età.</p>

C. Metodologia applicata
<p>Nell'ambito dello studio clinico di cui all'obiettivo 1, i pazienti che hanno soddisfatto i criteri di inclusione e hanno acconsentito a partecipare allo studio sono stati assegnati con sistema di randomizzazione a un periodo di 2 settimane di terapia fisica associata al trattamento sperimentale secondo l'appartenenza a uno dei seguenti gruppi: TBS cerebellare reale e placebo; sham TBS e placebo; sham TBS e 4-AP a rilascio prolungato. Prima di iniziare il trattamento sperimentale i soggetti sono stati sottoposti a risonanza magnetica dell'encefalo a 3T senza mezzo di contrasto; prelievi ematici; test di gravidanza; ECG; esame obiettivo e neurologico. All'inizio del periodo di trattamento sperimentale si è definita l'intensità con cui effettuare la singola sessione di stimolazione iTBS (reale oppure sham). Durante la fase di trattamento e in base al gruppo sperimentale di appartenenza, due treni di iTBS reale o sham sono stati applicati quotidianamente alla stessa ora del mattino (prima del trattamento fisioterapico) sull'emisfero cerebellare sinistro e destro con 2 minuti di intervallo tra i due treni. Placebo o 4-AP 10 mg sono stati somministrati due volte al giorno (una compressa ogni 12 ore alla stessa ora ogni giorno). Dopo 10 giorni di trattamento sperimentale (dal lunedì al venerdì) i pazienti sono stati sottoposti a una seconda valutazione in doppio cieco, hanno continuato la terapia fisica standard per altre 2 settimane e sono stati sottoposti a due ulteriori</p>



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

valutazioni alla fine del periodo di trattamento e 4 settimane dopo come follow-up. A ogni visita sono state effettuate valutazioni neurofisiologiche e comportamentali.

Per quanto riguarda lo studio degli effetti di una singola sessione di iTBS e della somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato, ogni partecipante è stato sottoposto ad una delle tre condizioni sperimentali: TBS cerebellare reale e placebo; sham TBS e placebo; sham TBS e 4-AP a rilascio prolungato. All'inizio di ogni sessione sperimentale, si è definita l'intensità con cui effettuare la singola sessione di stimolazione iTBS (reale oppure sham) e l'intera registrazione dei parametri neurofisiologici presi in esame. La TMS è stata applicata nei soggetti sani in corrispondenza dell'emisfero cerebellare destro, mentre nei pazienti sull'emisfero cerebellare ipsi-laterale al lato più sintomatico. Subito dopo la stimolazione ripetitiva, sono stati esplorati i cambiamenti neurofisiologici nei circuiti cortico-corticali interconnessi con il cervelletto e con il lobulo parietale, oltre al funzionamento dei circuiti intra-corticali. I partecipanti sono stati inoltre sottoposti a un compito di adattamento visuo-motorio. I pazienti sono stati valutati con esame obiettivo neurologico, scale e misure comportamentali prima ed immediatamente dopo le sessioni sperimentali al fine di verificare eventuali cambiamenti sulle prestazioni motorie dei pazienti. Per studiare modificazioni nella connettività funzionale indotta dalla TBS cerebellare sono state impiegate sequenze di resting-state con Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI).

D. Risultati ottenuti complessivi e delle singole unità operative

D.1 Risultati Complessivi

I risultati ottenuti con lo studio clinico hanno mostrato che l'associazione di iTBS alla riabilitazione neuromotoria in pazienti con SM e atassia cerebellare è ben tollerata determina un miglioramento nella velocità del cammino e nella stabilità posturale. A conferma di questo risultato, le misure comportamentali hanno mostrato l'impatto della modulazione della plasticità cerebellare dovuto a iTBS cerebellare sull'apprendimento visuo-motorio. Infine, gli studi neurofisiologici hanno consentito di individuare specifici cambiamenti dell'attività dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali indotti da TBS cerebellare, cambiamenti che possono sottendere agli effetti osservati.

I risultati ottenuti dalle misure comportamentali e neurofisiologiche hanno inoltre mostrato che la somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato non determina modificazione dell'apprendimento visuo-motorio, né cambiamenti neurofisiologici dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali in pazienti con diagnosi di SM con atassia cerebellare e in soggetti sani di pari età. Parimenti, l'aggiunta di 4-AP al trattamento di riabilitazione neuromotoria non ha determinato miglioramenti significativi, ma non ha determinato l'insorgenza di effetti avversi.

I risultati complessivi dello studio consentono pertanto di suggerire una nuova strategia neuromodulatoria che possa essere utilizzata per migliorare gli effetti della riabilitazione del cammino in pazienti con SM e atassia della marcia. Indicano inoltre che il trattamento con 4-AP è ben tollerato e, in particolare, non peggiora le performance deambulatorie in pazienti con SM e CGA.

Obiettivo 1:

- Valutare la sicurezza dell'applicazione di diverse sessioni di stimolazione non invasiva del cervelletto (i.e. stimolazione magnetica transcranica intermittente cerebellare - iTBS) e della terapia farmacologica con 4-aminopiridina (4-AP) a rilascio prolungato in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) con atassia cerebellare

E' stato completato uno studio clinico controllato, randomizzato, in doppio cieco in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) con atassia cerebellare che hanno effettuato un trattamento di neuroriabilitazione associata al trattamento sperimentale secondo l'appartenenza a uno dei seguenti gruppi: TBS cerebellare reale e placebo; sham TBS e placebo; sham TBS e 4-AP a rilascio prolungato e per i quali sono state



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

effettuate prima, durante, alla fine del trattamento e al follow up le seguenti valutazioni cliniche obiettive e di autovalutazione: ICARS, scala di Ashworth per la spasticità, Fatigue Severity Scale –FSS, 12-item multiple sclerosis walking scale MSWS-12, Activities of Daily Living –ADL, indice di Barthel –BI, Functional Independence Measure – FIM, Multiple Sclerosis Quality of life inventory – MSQoL-54. La safety è stata valutata tramite monitoraggio degli eventi avversi, parametri vitali, esami di laboratorio ed ECG. Al completamento del protocollo sperimentale (follow-up di 2 mesi dall'inizio delle procedure) in nessun paziente si sono verificati eventi avversi. Le procedure sperimentali sono state ben tollerate da tutti i partecipanti. Alla fine del trattamento, l'analisi statistica ha mostrato, rispetto al basale, il miglioramento soggettivo della fatica, della qualità della vita e del cammino in tutti i tre gruppi; nessun miglioramento ha raggiunto una significatività statistica.

- Valutare l'efficacia clinica dell'applicazione di diverse sessioni di stimolazione non invasiva del cervelletto (i.e. stimolazione magnetica transcranica intermittente cerebellare - iTBS) e della terapia farmacologica con 4-aminopiridina (4-AP) a rilascio prolungato nell'incrementare gli effetti della riabilitazione del cammino in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) con atassia cerebellare

L'analisi dei dati pertinenti all'outcome primario (timed 25-foot walk, T25FW) ha mostrato che l'associazione di i-TBS cerebellare al trattamento riabilitativo (gruppo TBS) ha determinato un miglioramento significativo della velocità del cammino nei pazienti rispetto all'associazione di 4-AP a rilascio prolungato al trattamento riabilitativo (gruppo DAP) e rispetto al trattamento riabilitativo da solo (gruppo CTRL) (ANOVA, $p=0.44$). I risultati degli outcome secondari di seguito presentati non hanno mostrato risultati significativamente differenti nei tre gruppi ad eccezione dei risultati della stabilometria, che hanno mostrato un miglioramento del controllo posturale statico nei pazienti sottoposti a i-TBS rispetto agli altri gruppi (ANOVA, $p=0.043$).

Obiettivo 2:

- Studiare e valutare se l'applicazione di una singola sessione di iTBS o la somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato possano essere associate a cambiamenti neurofisiologici dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali in un gruppo di pazienti con diagnosi di SM con atassia cerebellare, confrontati con un gruppo di soggetti di controllo di pari età

Nei soggetti sani la TBS cerebellare ha indotto una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti intracorticali SICI-ICF rispetto alla condizione di controllo. L'ANOVA eseguita su SICI-ICF ha mostrato un effetto ISI ($F= 10,2$; $p = 0,0001$) e un'interazione TBS x ISI ($F= 4,37$; $p = 0,0041$). L'analisi post hoc ha mostrato che nei soggetti sani la stimolazione con TBS cerebellare riduceva la SICI (cioè meno inibizione) agli intervalli interstimolo ISI = 2 msec ($p = 0,03$) ed aumentava la ICF (maggiore facilitazione) a ISI = 7 msec ($p = 0,04$) e ISI = 10 msec ($p = 0,04$). Inoltre la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti di inibizione cerebellare CBI rispetto alla condizione di controllo. L'ANOVA eseguita su CBI ha mostrato una significativa interazione TBS x ISI ($F= 3,17$; $p = 0,03$). In particolare l'analisi post hoc ha mostrato che nei soggetti sani la stimolazione con TBS cerebellare riduceva la CBI (cioè meno inibizione) agli intervalli interstimolo ISI = 5 msec ($p = 0,04$). Per quanto riguarda il protocollo relativo al circuito cortico-corticale PPC-M1 l'ANOVA mostrava un effetto ISI ($F= 5,2$; $p = 0,02$) ma nessuna significativa interazione TBS x ISI. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa i circuiti intracorticali SICI-ICF, i circuiti di inibizione cerebellare CBI ed il circuito cortico-corticale PPC-M1.

Nei pazienti con sclerosi multipla la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti intracorticali SICI-ICF rispetto alla condizione di controllo. L'ANOVA eseguita sui dati relativi al protocollo doppio stimolo SICI-ICF ha mostrato un effetto ISI ($F= 8,3$; $p = 0,004$) e un'interazione TBS x ISI ($F= 3,97$; $p = 0,036$). L'analisi post hoc ha mostrato che nei pazienti con sclerosi multipla la stimolazione con TBS cerebellare aumentava la ICF (maggiore facilitazione) agli ISI = 7 msec ($p = 0,03$) e ISI = 10 msec ($p = 0,04$). Per quanto riguarda i circuiti di inibizione cerebellare (CBI) la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa rispetto alla condizione di controllo. L'ANOVA mostrava una significativa interazione TBS x ISI ($F= 3,68$; $p = 0,02$). In particolare l'analisi post hoc ha



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

mostrato che nei pazienti con SM la stimolazione con TBS cerebellare riduceva la CBI (cioè meno inibizione) agli intervalli interstimolo ISI = 7 msec ($p = 0,04$). Anche in questo caso non abbiamo osservato modificazioni di rilievo per quanto riguarda il protocollo relativo al circuito cortico-corticale PPC-M1 (effetto ISI significativo ($F = 5,2$; $p = 0,02$) ma nessuna significativa interazione TBS x ISI). La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa i circuiti intracorticali SICI-ICF, i circuiti di inibizione cerebellare CBI ed il circuito cortico-corticale PPC-M1 (nessuna significativa interazione TBS x ISI).

L'analisi dei dati fMRI dei soggetti sani e dei pazienti non ha evidenziato differenze significative nei due gruppi sperimentali (tbs e sham).

- Studiare e valutare se l'applicazione di una singola sessione di iTBS o la somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato possano essere associate a cambiamenti comportamentali nell'esecuzione di una task di apprendimento visuo-motorio in un gruppo di pazienti con diagnosi di SM con atassia cerebellare, confrontati con un gruppo di soggetti di controllo di pari età.

Le analisi condotte sui dati comportamentali ottenuti con stimolazione cerebellare iTBS sul gruppo di soggetti sani hanno evidenziato un significativo miglioramento della performance in termini di minore deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning (apprendimento) e di Consolidation (consolidamento) nella condizione TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo (figura). Per la fase di Learning, abbiamo trovato un significativo effetto del fattore di stimolazione TBS ($F = 14,52$, $p < 0,0001$) e una significativa interazione tra il gruppo di stimolazione e le epoche ($F = 3,03$, $p < 0,0001$). Allo stesso modo, durante la fase di consolidamento abbiamo rilevato un significativo effetto di gruppo ($F = 19,12$, $p < 0,0001$) e una significativa interazione tra Gruppo ed Epoche ($F = 5,08$, $p < 0,0001$). Il t-test post hoc ha rivelato che in entrambe le fasi di apprendimento e consolidamento vi era una significativa riduzione dell'errore angolare medio per la condizione di TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa la performance in termini di deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning e di Consolidation.

Le analisi condotte sui pazienti con sclerosi multipla hanno evidenziato un significativo miglioramento della performance in termini di minore deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning (apprendimento) e di Consolidation (consolidamento) nella condizione TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo (figura). Per la fase di Learning, abbiamo trovato un significativo effetto del fattore di stimolazione TBS ($F = 12,02$, $p < 0,002$) e una significativa interazione tra il gruppo di stimolazione e le epoche ($F = 2,83$, $p < 0,002$). Allo stesso modo, durante la fase di consolidamento abbiamo rilevato un significativo effetto di gruppo ($F = 9,12$, $p < 0,03$) e una significativa interazione tra Gruppo ed Epoche ($F = 3,88$, $p < 0,05$). Il t-test post hoc ha rivelato che in entrambe le fasi di apprendimento e consolidamento vi era una significativa riduzione dell'errore angolare medio per la condizione di TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa la performance in termini di deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning e di Consolidation.

D.2 Risultati Singole UO

1) IRCCS Istituto Neurologico Nazionale Casimiro Mondino

Studio clinico controllato, randomizzato, in doppio cieco in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) con atassia cerebellare per valutare la sicurezza e l'efficacia clinica dell'applicazione di diverse sessioni di stimolazione non invasiva del cervelletto (i.e. stimolazione magnetica transcranica intermittente cerebellare - iTBS) e della terapia farmacologica con 4-aminopiridina (4-AP) a rilascio prolungato nell'incrementare gli effetti della riabilitazione del cammino.

L'arruolamento dei pazienti è stato effettuato presso il reparto di Neuroriabilitazione dell'Istituto Neurologico Nazionale Casimiro Mondino tra i soggetti che, in occasione di una visita di controllo presso gli ambulatori dedicati alla Sclerosi Multipla, avevano ricevuto indicazione a ricovero per trattamento riabilitativo. Sono stati arruolati 21 pazienti, 20 dei quali hanno completato tutte le procedure previste dallo



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

studio. Un paziente si è ritirato dallo studio dopo avere effettuato le prime registrazioni per problematiche familiari che hanno precluso l'aderenza alle procedure previste dallo studio.

Per tutti i pazienti sono stati analizzati i dati raccolti alla baseline, alla fine del trattamento sperimentale (T1, 14 giorni) e alla fine del trattamento di neuroriabilitazione (T2, 30 giorni) e alla valutazione di follow-up (T3, 2 mesi).

L'analisi descrittiva relativa alle variabili demografiche e cliniche indica che il nostro campione è coerente con i noti dati epidemiologici per quanto riguarda il genere (rapporto femmine: maschi di 1,2:1) e l'età media di esordio della SM (31,55 anni \pm DS 15,14). I tre gruppi di trattamento (TBS, DAP, CTRL) sono comparabili avendo caratteristiche clinico-demografiche del tutto sovrapponibili. Al basale, a T1, T2 e T3 i pazienti non differivano per punteggio al questionario per l'autovalutazione della fatica (MFIS-21), della qualità della vita (MSQoL54) e del cammino (MSWS-12).

I risultati degli esami di risonanza magnetica 3T sono stati sottoposti a post processing per il calcolo del carico lesionale totale e cerebellare, distinto tra lesioni della sostanza bianca e grigia, del verme e degli emisferi cerebellari. In media il carico lesionale totale era nel gruppo TBS 9866,84 mm³ \pm DS 6243,23, nel gruppo DAP 9182,87 mm³ \pm DS 7398,71 e nel gruppo CTRL 22491,96 mm³ \pm DS 10983,74, non si sono osservate differenze statisticamente significative tra i tre gruppi (ANOVA, $p=0,07$). In media il carico lesionale cerebellare era nel gruppo TBS 263,71 mm³ \pm DS 248,65, nel gruppo DAP 432,79 mm³ \pm DS 403,59 e nel gruppo CTRL 252,51 mm³ \pm DS 174,80, non si sono osservate differenze statisticamente significative tra i tre gruppi (ANOVA, $p=0,61$).

Al completamento del protocollo sperimentale (follow-up di 2 mesi dall'inizio delle procedure) in nessun paziente si sono verificati eventi avversi. Le procedure sperimentali sono state ben tollerate da tutti i partecipanti.

L'analisi dei dati pertinenti all'outcome primario (timed 25-foot walk, T25FW) ha mostrato che l'associazione di i-TBS cerebellare al trattamento riabilitativo (gruppo TBS) ha determinato un miglioramento significativo della velocità del cammino nei pazienti rispetto all'associazione di Fampridina al trattamento riabilitativo (gruppo DAP) e rispetto al trattamento riabilitativo da solo (gruppo CTRL) (ANOVA, $p=0,44$). I risultati degli outcome secondari di seguito presentati si riferiscono pertanto al confronto tra baseline e T2 che ha mostrato risultati significativi differenti nei tre gruppi.

L'analisi dei dati pertinenti agli outcome secondari non ha consentito l'attribuzione del miglioramento del cammino a variazioni della durata delle diverse fasi del ciclo del passo, né della cadenza. Per analizzare i dati ottenuti con l'analisi del cammino è stato creato un software ad hoc (Matlab), finalizzato a descrivere nel dettaglio quali modificazioni sottendono il miglioramento osservato (miglioramento nella velocità del cammino). In particolare, l'attivazione della muscolatura degli arti inferiori è stata descritta in funzione delle diverse fasi del passo e sono stati calcolati indici di coattivazione tra muscoli agonisti e antagonisti del singolo arto. Anche la valutazione dell'indice di co-attivazione non ha mostrato differenze significative tra i gruppi di trattamento. I risultati della stabilometria hanno invece mostrato un miglioramento del controllo posturale statico nei pazienti sottoposti a i-TBS rispetto agli altri gruppi (ANOVA, $p=0,043$). L'analisi dei movimenti oculari per la valutazione della fatica ha mostrato che la velocità di picco si riduceva, dal primo al decimo minuto, in tutti i soggetti registrati a T0. Lo stesso paradigma ripetuto a T2 ha mostrato una minor riduzione della velocità di picco nel gruppo di soggetti trattati con 4-aminopiridina e nei controlli e una maggiore riduzione della velocità di picco nel gruppo trattato con iTBS, tali differenze non sono però risultate significative. Il paradigma di adattamento dei movimenti oculari ha mostrato che, basalmente, tutti i pazienti erano in grado di adattare l'ampiezza dei loro movimenti oculari nel paradigma di double-step. L'entità dell'adattamento era maggiore nel gruppo iTBS, ma tale differenza non risultava statisticamente significativa. Dopo 1 mese di fisioterapia (T2), l'analisi statistica (modello lineare generalizzato a misure ripetute) ha mostrato, rispetto al basale, il miglioramento soggettivo della fatica, della qualità della vita e del cammino in tutti i tre gruppi; nessun miglioramento ha raggiunto una significatività statistica.

I risultati ottenuti, nel loro complesso, indicano che l'associazione di iTBS alla riabilitazione



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

neuromotoria in pazienti con SM e atassia cerebellare può determinare un miglioramento nella velocità del cammino e nella stabilità posturale. I risultati dello studio consentono pertanto di suggerire una nuova strategia terapeutica e di individualizzare il progetto riabilitativo del cammino per i pazienti con SM e atassia della marcia.

2) IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Laboratorio di Neurologia Clinica e Comportamentale.

Studio dei cambiamenti clinici e comportamentali e caratterizzazione dei cambiamenti neurofisiologici indotti una singola sessione di iTBS cerebellare e della somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato.

È terminato il reclutamento dell'intero campione di soggetti sani e dei pazienti con sclerosi multipla afferenti agli ambulatori dedicati alla Sclerosi Multipla dell'I.R.C.C.S. Fondazione Santa Lucia. I soggetti sono stati sottoposti a registrazione neurofisiologica e valutazione comportamentale (task di adattamento visuo-motorio). Sono stati analizzati dati comportamentali e neurofisiologici che hanno permesso di evidenziare cambiamenti dei meccanismi di eccitabilità indotti dalla stimolazione iTBS cerebellare e dalla somministrazione della 4-aminopiridina. I risultati ottenuti hanno consentito di individuare specifici cambiamenti di attività della corteccia motoria e dei circuiti che connettono il cervelletto con l'area motoria e la corteccia parietale posteriore con l'area motoria dovuti alla modulazione della plasticità cerebellare con TBS o 4-AP in soggetti sani e nei pazienti con sclerosi multipla. Inoltre abbiamo mostrato l'impatto della modulazione della plasticità cerebellare dovuto a TBS cerebellare o 4-AP sull'apprendimento visuo-motorio in soggetti sani e nei pazienti con sclerosi multipla. Per quanto riguarda le modificazioni neurofisiologiche dovute alla modulazione della plasticità cerebellare con TBS o 4-AP nei soggetti sani, la TBS cerebellare ha indotto una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti intracorticali SICI-ICF rispetto alla condizione di controllo, riducendo la SICI (cioè meno inibizione) ed aumentando la ICF. Inoltre la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti di inibizione cerebellare CBI rispetto, riduceva l'inibizione. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa i circuiti intracorticali SICI-ICF, i circuiti di inibizione cerebellare CBI ed il circuito cortico-corticale PPC-M1. Nei pazienti con sclerosi multipla la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa per quanto riguarda i circuiti intracorticali SICI-ICF rispetto alla condizione di controllo. La stimolazione con TBS cerebellare aumentava la ICF. Per quanto riguarda i circuiti di inibizione cerebellare (CBI), la TBS cerebellare induceva una modificazione significativa rispetto alla condizione di controllo, riducendo la CBI (cioè meno inibizione). La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa i circuiti intracorticali SICI-ICF, i circuiti di inibizione cerebellare CBI ed il circuito cortico-corticale PPC-M1. L'analisi dei dati fMRI dei soggetti sani e dei pazienti non ha evidenziato differenze significative nei due gruppi sperimentali (tbs e sham). Le analisi condotte sui dati comportamentali ottenuti con stimolazione cerebellare TBS sul gruppo di soggetti sani hanno evidenziato un significativo miglioramento della performance in termini di minore deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning (apprendimento) e di Consolidation (consolidamento) nella condizione TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa la performance in termini di deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning e di Consolidation. Le analisi condotte sui pazienti con sclerosi multipla hanno evidenziato un significativo miglioramento della performance in termini di minore deviazione tra il cursore ed il target nelle fasi di Learning (apprendimento) e di Consolidation (consolidamento) nella condizione TBS cerebellare rispetto alla condizione di controllo. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa la performance motoria.



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

E. Abstract Ricerca per la pubblicazione Internet

Obiettivi Questa ricerca si è proposta di valutare se la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (intermittent Theta Burst Stimulation – iTBS) o la somministrazione della 4-Aminopiridina a rilascio prolungato (4-AP) possano migliorare, attraverso l'induzione di plasticità sinaptica, la risposta al trattamento di riabilitazione neuromotoria in pazienti affetti da sclerosi multipla (SM) con atassia cerebellare della marcia (cerebellar gait ataxia, CGA).

Metodi La sicurezza e l'efficacia clinica della iTBS cerebellare e della 4-AP nell'incrementare gli effetti della riabilitazione del cammino sono stati valutati tramite esecuzione in uno studio clinico controllato, randomizzato, in doppio cieco in pazienti affetti da MS con CGA nell'ambito del quale gli effetti della iTBS cerebellare e della 4-AP sono stati confrontati con quelli di un programma di riabilitazione neuromotoria standard in pazienti affetti da SM e con CGA. I pazienti che hanno soddisfatto i criteri di inclusione e hanno acconsentito a partecipare allo studio sono stati assegnati con sistema di randomizzazione a un periodo di 2 settimane di terapia fisica associata al trattamento sperimentale secondo l'appartenenza a uno dei seguenti gruppi: TBS cerebellare reale e placebo; sham TBS e placebo; sham TBS e 4-AP a rilascio prolungato. Durante la fase di trattamento e in base al gruppo sperimentale di appartenenza, due treni di iTBS reale o sham sono stati applicati quotidianamente alla stessa ora del mattino (prima del trattamento fisioterapico) sull'emisfero cerebellare sinistro e destro con 2 minuti di intervallo tra i due treni. Placebo o 4-AP 10 mg sono stati somministrati due volte al giorno (una compressa ogni 12 ore alla stessa ora ogni giorno). Dopo 10 giorni di trattamento sperimentale (dal lunedì al venerdì) i pazienti sono stati sottoposti a una seconda valutazione in doppio cieco, hanno continuato la terapia fisica standard per altre 2 settimane e sono stati sottoposti a due ulteriori valutazioni alla fine del periodo di trattamento e 4 settimane dopo come follow-up. Tutti i pazienti sono stati sottoposti, prima dell'inizio del trattamento sperimentale, ad un esame di risonanza magnetica a 3 Tesla e i dati sono stati utilizzati per il calcolo del volume lesionale sovra e sottotentoriale. A ogni visita sono stati acquisiti dati obiettivi neurologici, punteggi ottenuti con compilazione di questionari di autovalutazione (MFIS-21, MSQoL54, MSWS-12) e misure neurofisiologiche (analisi del cammino con sonde EMG wireless e accelerometro, stabilometria statica a occhi aperti e chiusi, movimenti oculari con paradigma dedicato alla valutazione della fatica e con paradigma dedicato alla valutazione dell'adattamento). Cambiamenti nella velocità del cammino sono stati utilizzati come outcome primario e le altre misure cliniche neurofisiologiche e comportamentali come outcome secondari. La stimolazione magnetica transcranica è stata inoltre utilizzata in un differente gruppo di pazienti affetti da SM con CGA e in un gruppo di soggetti sani per studiare come l'induzione di plasticità cerebellare (tramite somministrazione di iTBS o di 4-AP) possa modulare l'efficacia dei circuiti intra-corticali, parieto-motorio e cerebello-motorio, mentre l'esecuzione di un compito di adattamento visuo-motorio è stata scelta per valutare eventuali modificazioni comportamentali.

Risultati Sono stati arruolati 21 pazienti, 20 dei quali hanno completato tutte le procedure previste dallo studio clinico. L'analisi descrittiva relativa alle variabili demografiche e cliniche ha mostrato che i tre gruppi di trattamento (TBS, DAP, CTRL) erano comparabili avendo caratteristiche clinico-demografiche del tutto sovrapponibili. I tre gruppi non differivano al basale per MFIS-21, MSQoL54 e MSWS-12. I risultati degli esami di risonanza magnetica 3T non hanno mostrato differenze significative tra gruppi di trattamento per carico lesionale totale e cerebellare. Al completamento del protocollo sperimentale in nessun paziente si sono verificati eventi avversi. Le procedure sperimentali sono state ben tollerate da tutti i partecipanti. L'analisi dei dati pertinenti all'outcome primario ha mostrato che l'associazione di iTBS cerebellare al trattamento riabilitativo ha determinato un miglioramento significativo della velocità del cammino nei pazienti rispetto all'associazione di 4-AP a rilascio prolungato al trattamento riabilitativo e rispetto al trattamento riabilitativo da solo. L'analisi dei dati pertinenti agli outcome secondari non ha consentito l'attribuzione del miglioramento del cammino a variazioni della durata delle diverse fasi del ciclo del passo, né della cadenza. Anche la valutazione dell'indice di co-attivazione muscolare durante il ciclo del passo non ha mostrato differenze significative tra i gruppi di trattamento. I risultati della stabilometria hanno mostrato un miglioramento del controllo posturale statico nei pazienti sottoposti a iTBS rispetto agli altri gruppi. L'analisi dei movimenti oculari per la valutazione della fatica e dell'adattamento non ha differenze significative tra gruppi di trattamento. La somministrazione di una singola dose di 4-AP non modificava in maniera significativa i circuiti di inibizione cerebellare. Le analisi condotte su un ulteriore gruppo di 20 pazienti con sclerosi multipla e su un gruppo di 20 soggetti sani hanno evidenziato un significativo miglioramento della performance nelle fasi di apprendimento e di consolidamento dopo applicazione di TBS cerebellare ma non



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

dopo somministrazione di 4-AP.

Conclusioni I risultati ottenuti con lo studio clinico hanno mostrato che l'associazione di iTBS alla riabilitazione neuromotoria in pazienti con SM e atassia cerebellare è ben tollerata determina un miglioramento nella velocità del cammino e nella stabilità posturale. A conferma di questo risultato, le misure comportamentali hanno mostrato l'impatto della modulazione della plasticità cerebellare dovuto a TBS cerebellare sull'apprendimento visuo-motorio. Infine, gli studi neurofisiologici hanno consentito di individuare specifici cambiamenti dell'attività dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali indotti da TBS cerebellare, cambiamenti che possono sottendere agli effetti osservati. I risultati ottenuti dalle misure comportamentali e neurofisiologiche hanno inoltre mostrato che la somministrazione di una singola dose di 4-AP a rilascio prolungato non determina modificazione dell'apprendimento visuo-motorio, né cambiamenti neurofisiologici dei circuiti cerebello-corticali e intra-corticali in pazienti con diagnosi di SM con atassia cerebellare e in soggetti sani di pari età. Parimenti, l'aggiunta di 4-AP a rilascio prolungato al trattamento di riabilitazione neuromotoria non ha determinato miglioramenti significativi, ma non ha determinato l'insorgenza di effetti avversi. I risultati complessivi di questa ricerca consentono pertanto di suggerire una nuova strategia neuromodulatoria che possa essere utilizzata per migliorare gli effetti della riabilitazione del cammino in pazienti con SM e atassia della marcia. Indicano inoltre che il trattamento con 4-AP a rilascio prolungato è ben tollerato e, in particolare, non peggiora le performance deambulatorie in pazienti con SM e CGA.

F1. Prodotti della Ricerca (correlati al progetto)

- I risultati ottenuti dall'UO1 sono stati oggetto di una tesi di laurea in medicina e sono stati inviati come contributo a congressi di rilevanza nazionale

Colnaghi S, Mallucci G, Mazzoleni V, Sandrini G, Bergamaschi R. Neuromodulation Strategies to Enhance the Effects of Gait Rehabilitation in Multiple Sclerosis Patients with Cerebellar Ataxia Preliminary Data. November 2018. Multiple Sclerosis and Related Disorders 26:266 DOI:10.1016/j.msard.2018.10.106

G. Mallucci, R. Bergamaschi, G. Sandrini, S. Colnaghi. Neuromodulation strategies to enhance the effects of gait rehabilitation in multiple sclerosis patients with cerebellar ataxia. Preliminary data. Congresso della Società Italiana di Neurologia 2018

Mallucci G, Mazzoleni V, Sandrini G, Bergamaschi R, Colnaghi S. Gait improvement after cerebellar tms in multiple sclerosis patients with gait ataxia. Congresso NeuroMi 2018 International Meeting

F.2 Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate

Colnaghi S, Mallucci G, Mazzoleni V, Sandrini G, Bergamaschi R. Neuromodulation Strategies to Enhance the Effects of Gait Rehabilitation in Multiple Sclerosis Patients with Cerebellar Ataxia Preliminary Data. November 2018. Multiple Sclerosis and Related Disorders 26:266 DOI:10.1016/j.msard.2018.10.106