

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA  
CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

tDCS e TMS confronto tra metodologie di stimolazione  
transcranica

Elaborato in  
Strumentazione Biomedica

Relatore  
Cristiano Cuppini

Presentato da  
Francesca Biondi

Sessione III  
Anno Accademico 2017-2018



*<<C'è stato un momento in cui ho pensato:*

*“non ce la faccio! Non ce la posso fare da sola.”*

*Poi ho chiuso gli occhi e ho immaginato me stessa mentre agivo.*

*E ce l'ho fatta.*

*Ho superato la paura e ce l'ho fatta.>>*

*Meredith Grey*



# **INDICE**

ABSTRACT

CAPITOLO 1: ELEMENTI DI BASE DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

CAPITOLO 2: TMS

2.1 STORIA

2.2 PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO

2.3 STRUMENTAZIONE

2.4 TIPOLOGIE DI STIMOLI

2.5 APPLICAZIONI DELLA TMS

2.6 LIMITI DELLA TMS

CAPITOLO 3: tDCS

3.1 STORIA

3.2 PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO

3.3 STRUMENTAZIONE

3.4 PARAMENTRI DI STIMOLAZIONE

3.5 APPLICAZIONI DELLA tDCS

3.6 LIMITI DELLA tDCS

CAPITOLO 4: CONFRONTO E CONCLUSIONI

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

RINGRAZIAMENTI



## **ABSTRACT**

Lo scopo di questo elaborato di tesi è di effettuare un confronto tra due diverse tecniche di stimolazione transcranica non invasive: la stimolazione magnetica transcranica (TMS) e la stimolazione transcranica a correnti dirette (tDCS).

Prima di entrare nel dettaglio delle due tecnologie, verranno illustrati gli elementi di base del sistema nervoso centrale quali la generazione e la propagazione degli impulsi nervosi, al fine di comprendere come le stimolazioni andranno ad intervenire sugli stessi, e la suddivisione delle varie aree cerebrali, al fine di comprendere di cosa si occupano, e dove sono, le aree di indagine di queste metodologie.

Per entrambe le tecniche di stimolazione verranno raccontati gli sviluppi storici che hanno portato al loro utilizzo e i principi fisici su cui si basano i loro funzionamenti. Di seguito verranno illustrate le diverse strumentazioni tecnologiche, per poi analizzare diversi ambiti applicativi in cui esse sono coinvolte e i limiti che ogni tecnologia presenta.

Per concludere verranno analizzate analogie e differenze sui diversi piani delle due metodiche.





## ELEMENTI DI BASE DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Da sempre il cervello è stato oggetto di grande interesse per l'uomo, tanto che una prima forma di neurochirurgia veniva esercitata già dagli antichi egizi, nella preparazione del cadavere previa sepoltura. Esso è il centro della nostra personalità e la sede di tutti i nostri pensieri, nonché la sede di tutti i processi cognitivi che stanno alla base di qualsiasi nostra azione o decisione. Risulta quindi ovvio che, per comprendere le capacità cognitive e comportamentali dell'uomo, è importante capire quali siano i meccanismi di base che permettono al cervello di coordinare tutto il corpo.

Il sistema nervoso comprende due diversi tipi di cellule: i neuroni, cellule eccitabili che sono l'unità funzionale del sistema nervoso, e le cellule gliali, non eccitabili che svolgono la funzione di supporto fisico alle prime.

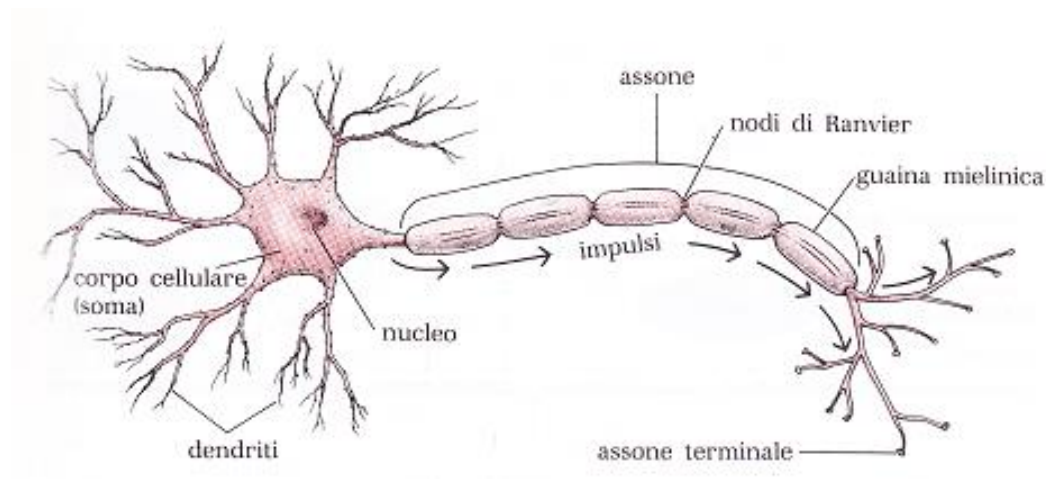
Il neurone è composto da tre strutture principali: il soma, i dendriti e l'assone.

Il corpo cellulare, detto soma, che comprende il nucleo e gli organelli, è caratterizzato da un ampio citoscheletro che si estende sino ai dendriti. I dendriti sono diramazioni del soma che si occupano della ricezione delle informazioni dai neuroni vicini, e permettono un ampliamento della superficie del neurone stesso. Infine, l'assone, che origina dal monticolo assonico, si occupa del trasporto delle informazioni mediante segnali elettrici e chimici e può presentare delle ramificazioni laterali con dei rigonfiamenti detti terminali assonici. I neuroni possono essere classificati in base alla loro struttura o in base alla loro funzione; in base a quest'ultima classificazione possiamo distinguerli in: *neuroni afferenti*, o sensoriali, che trasportano le informazioni dai recettori al sistema nervoso centrale; *interneuroni*, che sono totalmente contenuti nel sistema nervoso centrale; e i *neuroni efferenti* che trasportano le informazioni dal sistema nervoso centrale alle periferie del corpo.

Anche delle cellule gliali ne esistono di diverse tipologie, tra queste è importante ricordare le cellule di Schwann e gli Oligodendrociti che, oltre a fornire supporto ai neuroni, sono responsabili della produzione di mielina, rispettivamente nel sistema nervoso periferico e centrale.

La mielina è una sostanza isolante che ricopre gli assoni di molti neuroni al fine di garantire una maggiore velocità di trasmissione delle informazioni. Questa non avvolge gli assoni in maniera uniforme, ma in modo discontinuo intervallata dai cosiddetti nodi di Ranvier (come mostrato in figura 1), ricchi di canali del Sodio. Di fondamentale importanza sono anche gli Astrociti, cellule gliali del sistema nervoso centrale, che si pongono tra i neuroni pre e post-sinaptici, mantenendo l'omeostasi tramite il riassorbimento di ioni Potassio. Inoltre, fungono da

collegamento tra neuroni e vasi sanguigni, oltre a ricoprire i vasi diventando parte integrante della barriera ematoencefalica.



**Figura 1. Rappresentazione del neurone, sono messe in evidenza tutte le strutture sopracitate.**

La peculiarità del tessuto nervoso è la sua eccitabilità, ovvero la capacità di modificare il suo stato elettrochimico, se stimolato elettricamente, generando impulsi elettrici che si propagano lungo la membrana neuronale.

La membrana plasmatica dei neuroni presenta una diversa concentrazione di ioni tra l'interno e l'esterno, e questa disparità ne causa una polarizzazione ad un valore definito *potenziale di riposo*. Gli ioni che vengono maggiormente considerati, nel determinare questo potenziale, sono gli ioni Potassio, Sodio, Cloro e Calcio. In tabella sono riportati i valori delle concentrazioni dei vari ioni nel liquido intra ed extra cellulare.

IONE	L.I.C.	L.E.C.
K <sup>+</sup>	4 mM	140-150 mM
Na <sup>+</sup>	145 mM	12 mM
Cl <sup>-</sup>	120 mM	4-60 mM
Ca <sup>2+</sup>	1.5 mM	100 nM

Variazioni della permeabilità di membrana determinano la possibilità, per diversi ioni, di attraversare la membrana cellulare, determinando così un flusso di ioni che attraversa la membrana e che porta alla nascita del segnale elettrico. In altre parole, l'informazione nervosa si basa sulla capacità dei neuroni di produrre correnti elettriche in seguito alla variazione del loro potenziale di membrana, in risposta all'apertura o chiusura dei canali ionici, principalmente grazie all'attività della pompa Sodio-Potassio. L'attivazione o inattivazione di questi canali determina un flusso di carica, attraverso la membrana, che genera corrente. Il flusso netto di ioni depolarizza o iperpolarizza la cellula, generando un segnale elettrico, a seconda che determini, rispettivamente, un aumento o una diminuzione del potenziale di membrana.

Il *potenziale graduato* è un segnale di intensità variabile che si propaga a breve distanza e che cala di intensità a mano a mano che si trasmette; è una iper/depolarizzazione che ha luogo principalmente nei dendriti e nel soma del neurone, e la sua ampiezza è proporzionale all'evento che lo ha scatenato.

Il *potenziale d'azione*, invece, è una rapida variazione del potenziale di membrana oltre un valore definito *valore soglia*. Questo è un fenomeno del tipo "tutto o nulla", pertanto la sua intensità non dipende da quella del potenziale graduato che lo ha generato e si propaga su lunghe distanze senza calare mai di intensità.

Il potenziale d'azione (PA) si sviluppa in tre fasi principali:

- *Ascensione*: caratterizzata da un aumento della permeabilità al Sodio. La cellula si depolarizza fino al valore soglia. Più la cellula si depolarizza, più aumenta la permeabilità agli ioni  $\text{Na}^+$ , che ora entrano all'interno della cellula secondo gradiente chimico, tentando di portarla al valore di potenziale di equilibrio per il Sodio. In contemporanea si aprono anche i canali per il Potassio, voltaggio dipendenti, che sono più lenti. Durante questa fase il potenziale raggiunge il suo picco.
- *Ripolarizzazione*: durante questa fase i canali del Sodio iniziano a chiudersi, mentre è massima la permeabilità al Potassio, che esce dalla cellula secondo gradiente. Si ha quindi una rapida diminuzione del potenziale di membrana, che torna verso il valore di riposo.
- *Iperpolarizzazione*: una volta raggiunto il valore di potenziale di riposo, i canali del Potassio non sono ancora completamente chiusi e questo causa un ulteriore abbassamento del potenziale al di sotto del valore di riposo. La successiva apertura dei

canali del Sodio, e la chiusura di quelli del Potassio, riporterà il potenziale della cellula al suo valore di riposo.

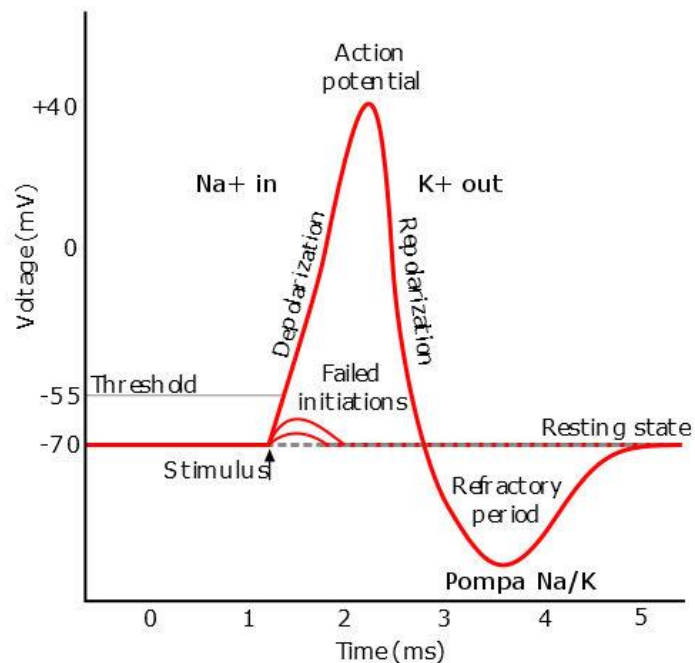


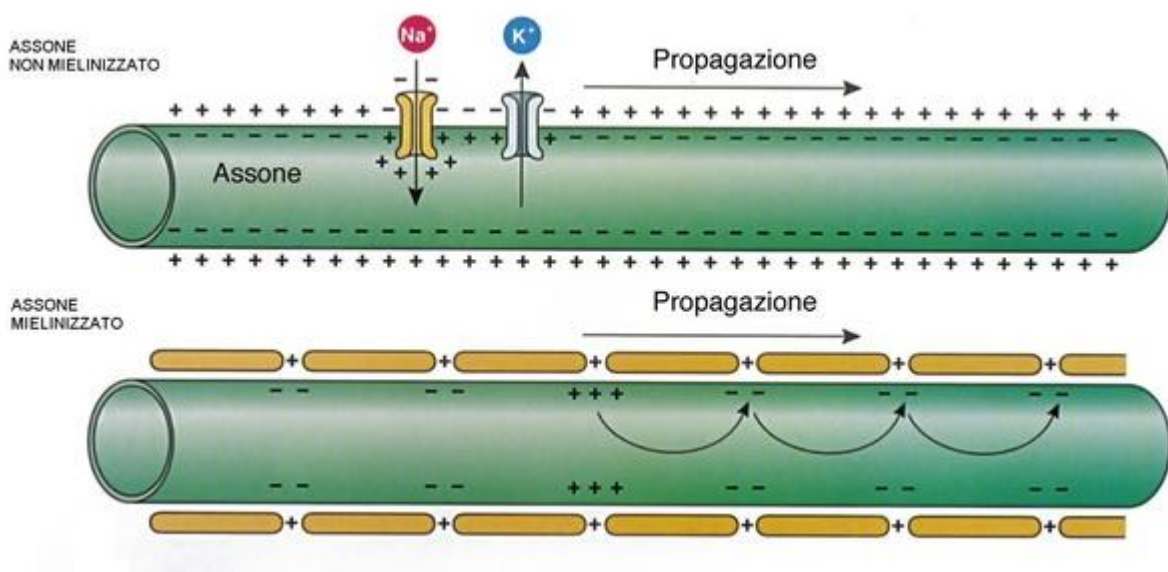
Figura 2. Fasi del potenziale d'azione

I canali del Sodio presentano due cancelli, uno di *attivazione* e uno di *inattivazione*, che, quando la cellula si trova a potenziale di riposo, sono rispettivamente chiuso ed aperto. Nel momento in cui la membrana si depolarizza, il cancello di attivazione si apre e gli ioni  $\text{Na}^+$  entrano nella cellula enfatizzando la depolarizzazione. Questo passaggio determina un feedback positivo che porta all'apertura di ulteriori canali del Sodio. Per interrompere questo fenomeno si chiudono i cancelli di inattivazione, che impiegano circa 0,5 ms, periodo durante il quale si verifica la fase ascendente del PA. Quando i cancelli di inattivazione si chiudono, gli ioni  $\text{Na}^+$  smettono di entrare all'interno della cellula, e il PA ha raggiunto il suo picco. La presenza del doppio cancello, quindi, ha due funzioni principali. La prima, è la determinazione del periodo refrattario, ovvero il periodo durante il quale non si può verificare un secondo PA, perché i cancelli devono tornare alla loro configurazione iniziale; e la seconda è quella di determinare la propagazione del PA in una sola direzione. Infatti, una volta che si è generato il potenziale d'azione, il segnale elettrico dovrà essere trasmesso lungo l'assone. La nascita del PA determina l'ingresso di cariche positive all'interno della cellula, queste si spostano lungo le sezioni di membrana adiacenti, in quanto queste zone hanno un potenziale negativo che attira gli ioni

positivi appena entrati. Questo fenomeno genera una corrente locale che apre i canali del sodio nelle sezioni adiacenti a quella in cui è nato il PA, determinandone la depolarizzazione. La carica positiva fluisce anche lungo la direzione opposta, ma qui risulta inefficiente in quanto la membrana era già stata depolarizzata e i canali del Sodio si trovano nel loro periodo refrattario.

La velocità di conduzione dipende dal diametro dell'assone e dalla resistenza della membrana, che può causare o meno dispersione ionica. Possiamo osservare due meccanismi diversi di propagazione negli assoni mielinizzati e in quelli non mielinizzati.

Nel primo caso, la conduzione, è detta saltatoria, infatti, il PA salta da un nodo di Ranvier all'altro. La mielina che avvolge l'assone, impedisce l'uscita di Potassio permettendo la trasmissione del potenziale al nodo successivo, senza perdita di intensità e in maniera più veloce. Negli assoni privi di mielina, invece, la conduzione è continua, la depolarizzazione, quindi, avviene in modo sequenziale lungo l'assone. Ogni sezione, a partire da quella in cui è nato il primo PA, determina una depolarizzazione, nella sezione adiacente, sufficiente per generare un nuovo PA.



**Figura 3.** Sono rappresentate le conduzioni di segnale elettrico in un assone non mielinizzato (in alto) e in uno mielinizzato (in basso).

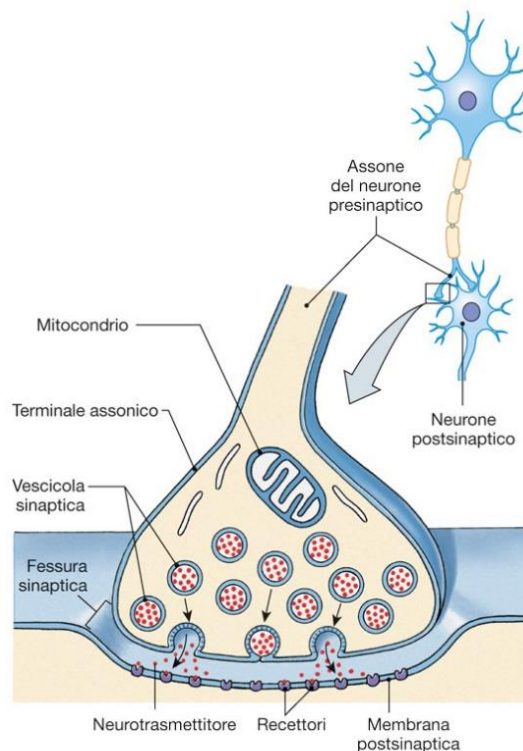
Una volta che il segnale elettrico è stato trasmesso sino al terminale assonico, deve essere trasmesso sulla membrana della cellula successiva.

Si definisce *sinapsi* l'area comprendente il terminale assonico presinaptico e la membrana della cellula postsinaptica, la quale può essere un altro neurone o una cellula non neuronale. Colloquialmente si definisce sinapsi anche il passaggio stesso dell'informazione da una cellula neuronale all'altra.

Esistono due tipi di sinapsi, quella elettrica e quella chimica. Nella *sinapsi elettrica* il segnale passa direttamente dal citoplasma, della cellula presinaptica, a quello della cellula postsinaptica tramite delle giunzioni comunicanti, che possono far passare anche piccole molecole come i segnali elettrici. Questo tipo di trasmissione si verifica principalmente tra strutture sincrone in quanto permette uno scambio di informazioni bidirezionale.

Nella *sinapsi chimica*, invece, il segnale elettrico presinaptico viene convertito in segnale chimico, che attraversa la fessura tra i due neuroni, per andare poi ad attaccarsi al recettore posto sulla membrana della cellula postsinaptica. Questo è possibile grazie ai neurotrasmettitori, sostanze prodotte nel soma del neurone, che sono poi trasportate sino ai terminali sinaptici, e che vengono espulse per esocitosi in seguito all'ingresso di ioni Calcio attraverso la membrana.

I terminali assonici presentano canali del Calcio voltaggio dipendenti, ovvero che si aprono in seguito a depolarizzazione, pertanto, una volta che il segnale elettrico ha attraversato tutto l'assone ed è giunto sino al terminale sinaptico, la depolarizzazione determina l'apertura di questi canali permettendo agli ioni  $Ca^{2+}$  di entrare all'interno della cellula. Una volta entrati, questi ioni si legano a proteine regolatrici e avviano il processo di esocitosi del neurotrasmettitore. Una volta che i neurotrasmettitori entrano in contatto con la cellula postsinaptica possono dare origine a un segnale elettrico o attivare un secondo messaggero.



**Figura 4. Rappresentazione di sinapsi chimica**

Ora che è stato spiegato il meccanismo che sta alla base della trasmissione delle informazioni nel sistema nervoso, è giusto chiarire come il cervello viene suddiviso nelle diverse aree, al fine di comprendere in seguito a quale regione del cervello ci si sta riferendo.

Il sistema nervoso si distingue tra sistema *nervoso periferico* e sistema *nervoso centrale*. Quest'ultimo è costituito da encefalo, formato, a sua volta, da telencefalo e diencefalo, e midollo spinale. Il telencefalo è la parte più voluminosa di questo sistema ed è costituito da due emisferi connessi tra loro tramite il corpo calloso, formato da fasci di assoni che scorrono da un emisfero all'altro, permettendo comunicazione e collaborazione tra le due parti.

Ogni emisfero è suddiviso in quattro regioni, allo stesso modo in cui sono suddivise le ossa craniche, e queste regioni sono: *frontale*, *parietale*, *temporale* e *occipitale*. Una caratteristica del cervello è quella di avere un aspetto rugoso, caratterizzato dalla presenza di solchi e circonvoluzioni, questo aspetto è una conseguenza del fatto che il cervello cresce più velocemente della scatola cranica, questa rapida crescita, pertanto, lo costringe a ripiegarsi su sé stesso aumentandone le capacità di elaborazione. La corteccia cerebrale, altro componente fondamentale che verrà richiamato di seguito, è la parte più esterna del telencefalo, ed è

costituita da uno strato non molto spesso, 2-4 mm, di sostanza grigia (ovvero un insieme di corpi cellulari, dendriti e assoni non mielinizzati, organizzati in nuclei). In questa porzione avviene l'integrazione di numerosissime informazioni decisionali e sensoriali. Può essere suddivisa in diverse regioni funzionali a seconda del compito per cui è imputata quella specifica zona. Una rappresentazione di tale suddivisione funzionale è riportata in figura 6.

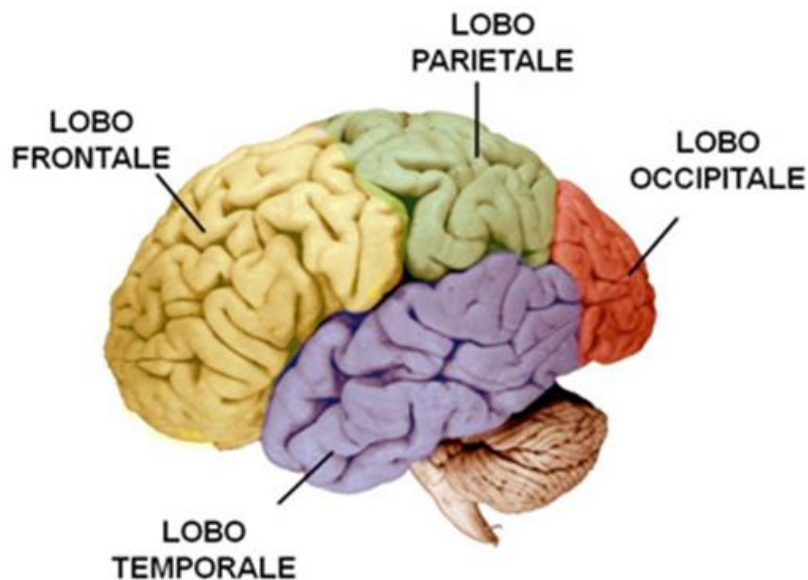


Figura 5. Rappresentazione dei lobi cerebrali

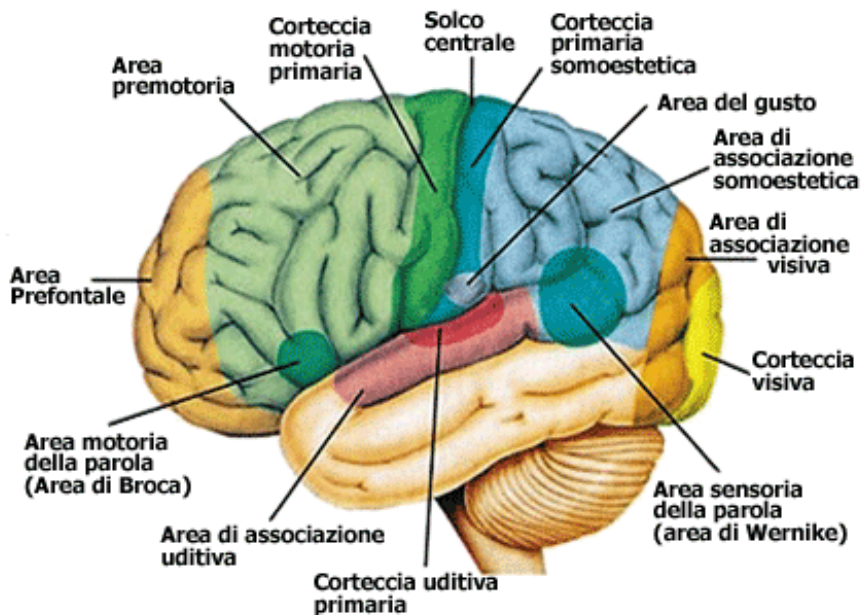


Figura 6. Rappresentazione delle regioni funzionali della corteccia cerebrale



## **TMS**

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) è un metodo di investigazione cerebrale non invasivo che permette di stimolare, o inibire, alcune aree della corteccia. Questa tecnica ha trovato impiego in ambito terapeutico e diagnostico, nello studio delle abilità motorie, nella mappatura del cervello e in diversi settori psicologici quali lo studio di depressione e dipendenze. Questa metodologia si basa sull'impiego di impulsi magnetici per indurre correnti elettriche nel tessuto cerebrale. Un' applicazione fondamentale di tale metodologia è l'inibizione di alcune parti del cervello per studiarne la causalità in specifici compiti.

## **STORIA**

I principi dell'induzione elettromagnetica vennero scoperti, nel 1831, da Michael Faraday e furono impiegati per la stimolazione di nervi e cervello a partire dal ventesimo secolo.

La TMS venne ideata come approccio alternativo alla stimolazione elettrica, che prevede l'induzione di correnti elettriche nel corpo, tramite elettrodi, che causano la depolarizzazione delle membrane cellulari, con conseguente stimolazione di nervi e muscoli.

Già nel 1791 Galvani dichiarò, e dimostrò, la capacità del cervello animale di produrre elettricità che si propagava tramite i nervi per poi accumularsi nei muscoli (Galvani, 1791), ma le prime stimolazioni elettriche del cervello vennero effettuate da Hitzig e Fritsch nel 1870 (Fritsch G, Hitzig E., 1870). Tramite un esperimento sui cani dimostrarono che, la stimolazione della corteccia, comporta l'attivazione dei muscoli controlaterali del corpo e capirono inoltre come la stimolazione cerebrale provocasse movimenti muscolari in maniera prevedibile, dimostrando che certe aree del corpo sono mappate nel cervello. Furono i primi a dare una prova sperimentale di quella che oggi chiamiamo corteccia motoria. Nel 1950 Penfield e Rasmussen (Penfield et al., 1950) effettuarono la prima stimolazione elettrica su cervello umano, confermando che le diverse parti del corpo sono mappate nella nostra corteccia secondo l'homunculus motorio, ovvero una rappresentazione dell'area motoria primaria sulla circonvoluzione precentrale del telencefalo. La stimolazione elettrica viene utilizzata, ancora oggi, per determinare la velocità di conduzione dei potenziali d'azione dei neuroni o per stimolare muscoli con legamenti neurali danneggiati. Tuttavia, questa tecnica, presenta diversi svantaggi quali possibile dolore o la difficoltà di raggiungere zone profonde del cervello, inoltre, alcune strutture cerebrali, presentano un'elevata resistenza elettrica che ne rende

difficile lo studio tramite questo metodo, in quanto sono difficilmente attraversabili dalle correnti indotte.

La TMS, sfruttando appunto i principi dell'induzione elettromagnetica, prevede l'induzione di correnti elettriche nel corpo, in risposta all'applicazione di campi magnetici variabili.

I primi tentativi di stimolazione cerebrale, con questa tecnica, fallirono a causa della tecnologia ancora poco sviluppata dell'epoca, che non era in grado di generare campi magnetici sufficientemente intensi e al tempo stesso velocemente variabili.

Solo nel 1985 Barker (Barker et al., 1985), e il suo gruppo di ricerca, presentarono la prima vera e propria Stimolazione Magnetica Transcranica, che da allora viene utilizzata come strumento diagnostico e terapeutico. Barker e i suoi colleghi produssero spasmi in una specifica area della mano, su volontari che si sottoposero all'esperimento, stimolando tramite TMS la corteccia motoria nell'emisfero opposto che controlla il movimento del muscolo stimolato. Quella che per Barker era la dimostrazione di un metodo di indagine non invasivo e indolore, oggi è diventato uno strumento fondamentale nelle neuroscienze.

## PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO

La stimolazione magnetica transcranica si fonda sul principio di induzione elettromagnetica. Questo fenomeno venne scoperto nel 1831 da M. Faraday, il quale si accorse che il movimento relativo di un magnete rispetto ad una spira, o viceversa, determinava la nascita di una corrente nella spira stessa. La variazione di un campo magnetico, pertanto, genera una corrente indotta. La variazione di tale campo magnetico può essere generata, a sua volta, dalla variazione di corrente che circola su un'ulteriore spira (induttrice) affiancata alla prima (indotta). La corrente indotta sul secondo avvolgimento nasce solo se la corrente che circola nel primo è variabile, nel momento in cui la prima corrente è stazionaria la corrente indotta sul secondo circuito va a zero, pertanto, ciò che sta alla base di tutti questi fenomeni, è la variazione del flusso magnetico concatenato al primo circuito considerato. La corrente indotta nella seconda spira avrà verso, tale per cui, il campo magnetico generato da tale corrente, si opporrà a quello presente sulla prima spira. Tutti questi avvenimenti sono sintetizzati nella legge di Faraday-Neumann-Lenz, la quale afferma che la forza elettromotrice indotta sul secondo circuito è pari alla derivata del flusso del primo campo magnetico, nel tempo, cambiata di segno.

$$f_{em} = - \frac{d\Phi(\vec{B})}{dt}$$

La TMS sfrutta un breve ed intenso impulso magnetico per indurre correnti nel cervello. Viene posizionata una bobina (coil) sul capo del paziente, in corrispondenza dell'area cerebrale che si vuole studiare, successivamente, un breve impulso elettrico di corrente alternata, attraversa la bobina generando un campo magnetico indotto che andrà a penetrare lo scalpo fino a raggiungere il tessuto cerebrale. Questo campo, a sua volta, indurrà, sull'area di interesse, una corrente elettrica che determinerà la depolarizzazione dei neuroni corticali.

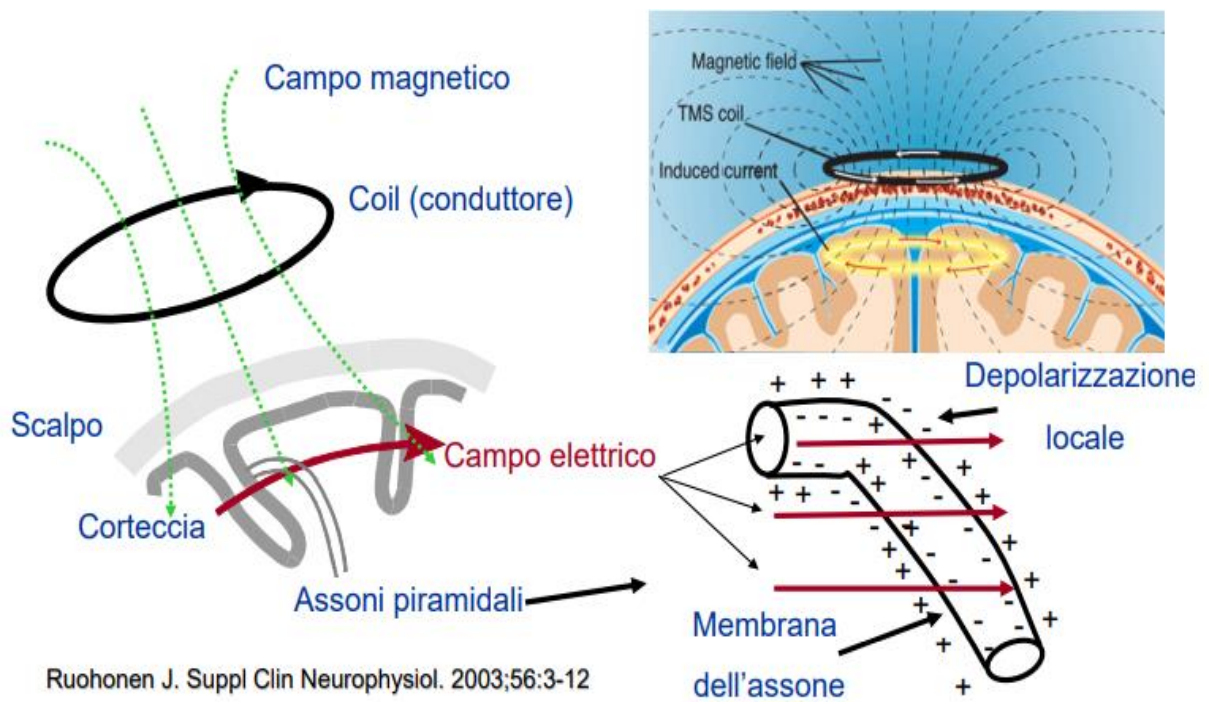


Figura 7. Funzionamento di base della TMS. In verde sono rappresentate le linee di campo magnetico generate dalla bobina. Queste inducono un campo elettrico nel tessuto cerebrale, le cui linee di campo sono disegnate in rosso, che determinano la depolarizzazione locale del tessuto sottostante la stimolazione. Si può notare come le linee di campo elettrico si propagano in maniera lineare senza seguire l'anatomia dei neuroni.

## **STRUMENTAZIONE**

La strumentazione per TMS è composta da due unità fondamentali: la *bobina* e un *corpo centrale* contenente: un condensatore, per l'accumulo di energia, un interruttore e un sistema per il recupero energetico. Il funzionamento di base prevede, come evento iniziale, la carica del condensatore seguito dalla chiusura dell'interruttore, in modo da permettere alla corrente di circolare all'interno della bobina. Una volta che il condensatore si sarà scaricato potrà essere nuovamente caricato. Lo strumento eroga uno stimolo magnetico molto breve, di durata di circa 280µs, ad alta intensità, fino a 4T, ed è detto stimolatore magnetico. La bobina è costruita con un materiale conduttore e, una volta attraversata da una grande corrente per un breve periodo, indurrà un campo elettromagnetico nell'area cerebrale che si vuole stimolare. La geometria, la posizione e l'energia dello stimolo magnetico determinano, quindi, l'eccitabilità del tessuto neuronale. Possiamo distinguere due tipi fondamentali di stimolazione: monofasica e bifasica.

### **Stimolatore monofasico**

Questo stimolatore viene principalmente utilizzato per stimolazioni a singolo impulso e i suoi componenti fondamentali sono:

- Unità di carica ad alto voltaggio, (1-3 kV) utilizzata per caricare il condensatore;
- Condensatore, in questo caso si può utilizzare un condensatore elettrolitico che ha una capacità variabile dai 100 ai 500 µF;
- Diodo, mantiene la tensione ai capi del condensatore positiva;
- Bobina, caratterizzata da un'induttanza di circa 10-25 µH;
- Tiristore, dispositivo in grado di trasmettere correnti elevate in pochi microsecondi;

quando il condensatore è carico si chiude l'interruttore grazie al circuito trigger (tiristore). Quando il tiristore si accende trasferisce, alla bobina, la tensione presente ai capi del condensatore, in modo che la corrente possa iniziare a circolare sulla stessa. Una volta che la corrente ha raggiunto il suo valore massimo, ha inizio il processo di inversione della polarizzazione, durante il quale, il diodo conduce e l'energia viene dissipata attraverso la resistenza del circuito.

I condensatori, che vengono generalmente usati nei dispositivi TMS, riescono a immagazzinare fino a 2.000 J di energia, ma, negli stimolatori monofasici, solo una minima parte di questa energia viene utilizzata per produrre l'impulso magnetico, a causa dell'alto dispendio energetico che si verifica per effetto Joule.

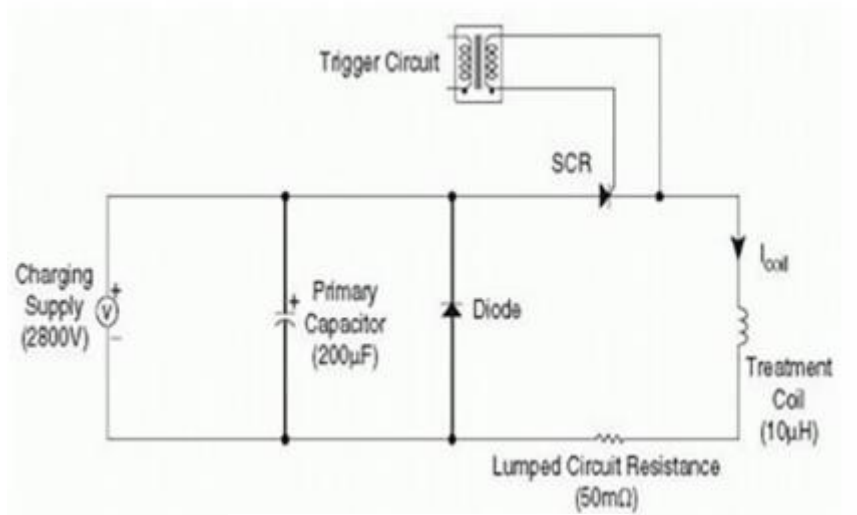


Figura 8. Stimolatore monofasico

### Stimolatore bifasico

Questo tipo di stimolatore viene utilizzato per quelle indagini che necessitano una ricarica veloce del condensatore e brevi intervalli temporali tra un impulso e il successivo. In questo caso, la tensione ai capi del condensatore, non è bloccata da un diodo, ma è libera di variare tra valori positivi e negativi. Pertanto, si utilizza un deviatore che consente alla corrente di evitare il tiristore. In questa tecnologia, al termine di ogni ciclo, troviamo una tensione residua ai capi del condensatore, pari al 50-80% di quella iniziale, concedendo una minore potenza totale e intervalli più brevi tra un impulso e l'altro.

In entrambi i casi è richiesto l'utilizzo di una bobina caratterizzata da bassa impedenza, inferiore a  $1\Omega$ , al fine di garantire un rapido passaggio di corrente.

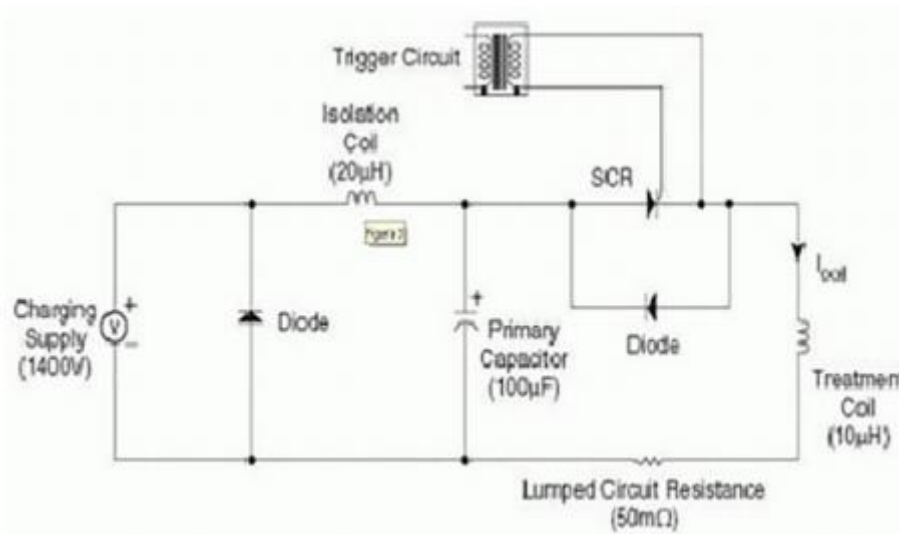


Figura 9. Stimolatore bifasico

## Bobina

Il secondo elemento fondamentale della strumentazione per TMS è la bobina, la cui geometria e dimensione, influenzano la focalità del campo magnetico e della corrente indotta, determinando quindi l'ampiezza dell'area cerebrale che verrà esaminata. La forma del coil sarà fondamentale per determinare focalità e profondità dello stimolo indotto. Anche in questo caso troviamo due tipologie fondamentali: la *bobina circolare* e la *bobina ad otto* o a farfalla.



Figura 10. Bobina circolare e Bobina a farfalla

Il primo tipo permette di effettuare stimolazioni su aree molto ampie, in quanto l'intensità del campo indotto, è massima sotto l'anello; la bobina a farfalla, invece, viene generalmente impiegata in studi che necessitano di una maggiore precisione spaziale, la quale viene garantita dal fatto che, il massimo valore del campo indotto, si osserva nell'intersezione dei due anelli, evidenziando pertanto una zona molto ridotta. Il picco di intensità all'intersezione è dovuto al senso opposto con cui girano le correnti all'interno dei due anelli. Questa tipologia di coil permette di analizzare aree cerebrali fino ad uno spessore di penetrazione di 2 cm mentre, con una coil circolare, questo valore è notevolmente inferiore.

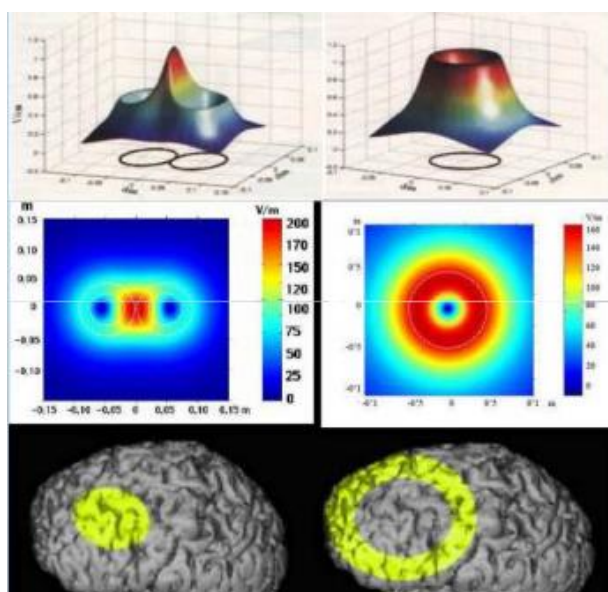


Figura 11. Rappresentazione dell'intensità del campo magnetico indotto e delle aree investite.

In generale l'intensità del campo decresce nello spazio con un indice inversamente proporzionale al quadrato della distanza.

Nel primo caso indaghiamo un'area maggiore a discapito della focalità, viceversa, con il coil ad otto, l'area investita è minore, ma è maggiore la sua focalità. Dal momento in cui la corrente inizia a circolare nella bobina, inizia a produrre calore che deve essere dissipato. Quando la temperatura della stessa supera i 42°C, lo stimolatore si blocca, al fine di garantire la sicurezza del paziente. In relazione a questo aspetto possiamo distinguere i coil in due categorie: quelli raffreddati e quelli non raffreddati. Questi ultimi vengono impiegati per stimolazioni singole ed erogano circa 300 stimoli, prima del surriscaldamento. Le bobine raffreddate, invece, sono caratterizzate da un apposito liquido, o gas, fatto circolare tra il coil e il modulo di raffreddamento, e si possono distinguere in statiche e dinamiche. Le statiche, sono usate per stimolazioni ripetitive, in terapie con protocolli di media durata ed erogano circa 3.000 stimoli prima di andare incontro al riscaldamento. I coil raffreddati dinamicamente, invece, vengono impiegati in protocolli terapeutici di lunga durata e rilasciano fino a 30.000 stimoli consecutivi. In alcuni casi è possibile effettuare stimolazioni utilizzando una combinazione di diverse bobine, al fine di ottenere la configurazione di campo indotto ottimale, di contro questo può provocare un incremento eccessivo delle variabili in gioco, rendendo più difficile la regolazione di tutti i parametri di interesse quali frequenza, intensità di stimolazione o il posizionamento delle bobine.



## TIPOLOGIE DI STIMOLI

A seconda delle necessità e del tipo di studio che si vuole effettuare, possiamo ricorrere a diversi tipi di stimolazione. I principali metodi, ad oggi utilizzati, sono la TMS a singolo impulso, a doppio impulso o ripetuta.

La **TMS a singolo impulso**, come anticipato dal nome stesso, prevede l'esecuzione di un unico impulso che va ad investire l'area di interesse, per effettuarne uno studio specifico. Questo tipo di stimolazione viene utilizzato quando si vuole registrare l'attività in uno specifico momento, ovvero quando si vuole determinare l'esatto momento in cui una precisa area entra in gioco, il tutto è permesso dall'elevata risoluzione temporale che tale metodologia offre, inferiore al secondo. Tale risoluzione dipende direttamente dal fatto che l'effetto della stimolazione decade quasi istantaneamente. Questo tipo di stimolazione, generalmente, viene affiancato ad acquisizioni elettroencefalografiche.

Uno degli ambiti in cui la stimolazione magnetica transcranica è più utilizzata è lo studio del sistema motorio, per ricercarne lesione, per individuare eventuali demielinizzazioni o per lo studio di altri danni che sono concomitanti con la presenza di malattie, quali il morbo di Parkinson. Per effettuare questo tipo di studi si utilizzano i Potenziali Motori Evocati (MEP) che sono utilizzati, principalmente, per lo studio della corteccia motoria, più precisamente per studiare il tempo di conduzione neuronale. I potenziali evocati, come dice il nome, sono segnali che vengono provocati da stimoli specifici, al fine di valutare e studiare alcune vie nervose.

I MEP sono utilizzati per studiare la corteccia motoria e vengono generati grazie a stimoli magnetici prodotti tramite elettrodi o coil.

Un aumento del tempo di conduzione, lungo una via neurale, è tipicamente riscontrato in pazienti affetti da disturbi neurodegenerativi. Il MEP, quindi, può essere utilizzato per valutare le condizioni di pazienti con lesioni al midollo spinale o con malattie quali la sclerosi multipla. Applicando un TMS singolo si genera un potenziale motorio evocato: l'ampiezza del potenziale evocato rappresenta l'eccitabilità corticospinale, mentre, la latenza dei potenziali stessi, misura la velocità di trasmissione del segnale neurale dalla corteccia al muscolo. Anomalie nel MEP sono quindi indici di anomalie corticospinali o, in generale rilevano la presenza di disturbi nel tragitto cortico-muscolare. In seguito alla comparsa del MEP, che si è generato in risposta allo stimolo TMS, si osserva una inibizione, di qualche centinaio di millisecondi, dell'attività volontaria del muscolo sollecitato. Con il termine *periodo silente* si indica l'intervallo temporale che intercorre tra la fine del potenziale evocato e il ripristino dell'attività motoria

volontaria. Questo è un ulteriore parametro utilizzato per diagnosticare disturbi motori, infatti, anomalie di questo intervallo, sono riscontrati in pazienti affetti da malattie quali il Parkinson o, in generale, si riscontrano in soggetti affetti da paresi e/o difficoltà motorie in seguito ad ictus. Un limite di questa tecnica consiste nello stabilire con precisione la fine del MEP, pertanto si tende a considerare il periodo silente a partire dall'invio dello stimolo fino al ripristino della normale attività motoria volontaria.

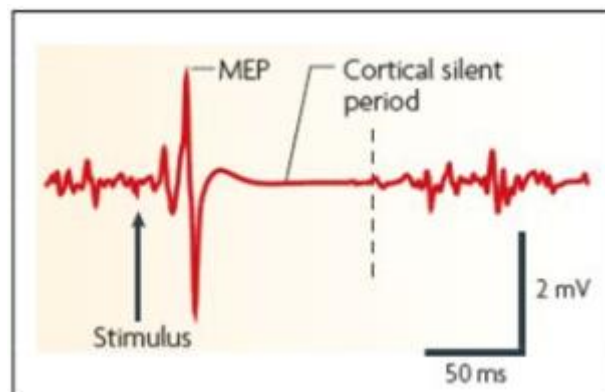


Figura 12. Nascita di MEP in seguito a stimolo di TMS con successivo ripristino dell'attività motoria autonoma.

La TMS può essere utilizzata anche in ambiti diversi dallo studio del sistema motorio, per esempio, viene utilizzata per mappare l'estensione delle varie aree corticali. Lo stimolo inviato modifica, momentaneamente, l'attività dell'area investita, dimostrando la correlazione tra l'area stessa e diverse attività, o compiti, svolti durante l'analisi. La mappatura può essere effettuata in diversi momenti per studiare la plasticità e la funzionalità del tessuto cerebrale.

Il secondo metodo citato è la **TMS a doppio impulso** che prevede, in sequenza, uno *stimolo di condizionamento*, sotto soglia, seguito da uno *stimolo di test* sopra soglia (+10%/+30% rispetto al valore soglia), i due sono separati da un intervallo di durata che varia da 1 a 20 ms.

Questa metodologia può essere indicata con il termine *ppTMS*, dove "pp" è l'acronimo di "paired pulse". Tale tipo di indagine viene utilizzata per valutare i meccanismi di inibizione, o facilitazione, della corteccia motoria primaria, in particolare, per comprendere i meccanismi di interazione corticale a partire dall'interazione dei due stimoli. Pertanto, la coppia di impulsi può essere presentata, sulla stessa zona, in maniera ripetuta variandone l'intensità o l'intervallo di separazione. Il risultato di tale interazione dipende dall'intensità degli stimoli stessi e dall'intervallo ad essi interposto, ovviamente si possono trarre solo conclusioni generali in quanto, ogni soggetto, manifesta comportamenti diversi. Si è osservato che, per stimoli di test

con intensità superiore al 50% del valore di soglia, si determina l'inibizione dell'area studiata, se l'impulso di test viene effettuato dopo pochi millisecondi. Questo è determinato dal fatto che i neuroni, che sono stati influenzati dallo stimolo condizionante, necessitano di tempo per recuperare la loro capacità depolarizzante, e, in un intervallo di tempo così breve, attivano solo una limitata porzione di neuroni adiacenti, determinando l'inibizione di tale area.

Viceversa, con periodi refrattari tra i due stimoli più lunghi (tra i 7 e i 12 ms), e, a parità di intensità, lo stimolo condizionante attiva meccanismi facilitatori, eccitando l'area studiata. Questi risultati sono simili per diverse parti del corpo, pertanto la ppTMS vanta di molti ambiti applicativi.

Principalmente utilizzata in ambito clinico, tale metodologia, è uno strumento fondamentale nella guida alla scelta della cura farmacologicamente più adatta, in quanto è in grado di mostrare come i diversi farmaci agiscano su differenti zone della corteccia motoria.

Uno studio pubblicato da Ziemann (Ziemann et al., 1996), utilizza la TMS a doppio impulso per indagare come, farmaci antiepilettici, agiscano sulla corteccia motoria umana.

I soggetti dello studio erano volontari sani ai quali veniva somministrata una dose di farmaco per via orale, venivano poi calcolati la soglia motoria, il periodo silente e l'eccitabilità intracorticale, prima e dopo l'assunzione del farmaco ad intervalli definiti. Si è evidenziato come i farmaci, che favoriscono l'attività del neurotrasmettitore inibitorio GABA, riducano l'eccitabilità intracorticale, ma non incidano sulla soglia motoria, definita come l'intensità necessaria per generare un MEP di 50 $\mu$ V almeno nel 50% delle prove (Rossini et al., 1999).

Viceversa, i farmaci che bloccano canali del calcio e del sodio, aumentano la soglia, ma non modificano l'eccitabilità. Questo ci dice che, le variazioni di eccitabilità, sono controllate dai circuiti interneuronali del GABA, mentre, i cambiamenti di soglia, dipendono dalla conduttività dei canali ionici, che sostanzialmente determina il potenziale di membrana.

In conclusione, questa tecnica può essere un supporto fondamentale nella scelta del farmaco più adatto al singolo paziente e per studiare in generale gli effetti selettivi dei vari farmaci.

Va inoltre ricordato che, la stimolazione a doppio impulso, può essere applicata anche a livello del cervelletto o lungo diversi complessi nervosi, permettendo lo studio del sistema motorio a più livelli.

L'ultima tipologia di TMS elencata è quella ripetuta, detta anche **rTMS**. Questa prevede l'applicazione di treni di impulsi, tutti alla stessa frequenza ed intensità, con intervalli tra gli stessi di circa 50 ms, applicati per lunghi periodi dalla durata variabile dai 20 ai 30 minuti.

La peculiarità di questa tecnica è la permanenza degli effetti, che possono essere eccitatori o inibitori, come per la ppTMS, per un periodo di tempo che si protrae oltre la fine dell'applicazione del treno stesso. Anche in questo caso gli effetti registrati non sono univoci, ma variano a seconda del soggetto e dei parametri caratterizzanti il treno.

Generalmente, frequenze più alte (20 Hz) determinano un aumento dell'eccitabilità neuronale, le basse frequenze (circa 1 Hz), invece, determinano effetti duraturi e consistenti.

La TMS ripetuta può essere effettuata in due differenti modalità: *online* o *offline*. Nella rTMS online, durante la somministrazione dei treni di impulsi, viene chiesto al soggetto di effettuare un compito; nel secondo caso, invece, la stimolazione precede di qualche minuto l'esecuzione del compito stesso, sfruttando, appunto, la capacità di influenzare, per un prolungato intervallo di tempo, l'area cerebrale di interesse. Uno svantaggio della rTMS risiede proprio nella sua ripetitività che può causare dolore e fastidio, a differenza della TMS a singolo impulso, che non viene avvertita dal paziente.

## **APPLICAZIONI DELLA TMS**

Possiamo dedurre, per quanto detto fino ad ora, che la stimolazione magnetica transcranica è una metodologia di indagine spendibile in numerose applicazioni. Questa tecnica può essere utilizzata per combattere numerosi disturbi neurologici quali Parkinson, tramite stimolazione dell'area corticale motoria, e l'Alzheimer. Di altrettanto interesse è l'utilizzo della TMS nella cura di disturbi psicologici quali la depressione.

### **TMS e malattie neurodegenerative**

Un recente studio, guidato dal Dottore Giacomo Koch (Koch et al., 2017), presso il Laboratorio di Neuropsicofisiologia Sperimentale della Fondazione Santa Lucia IRCCS, ha riscontrato un miglioramento della memoria nei pazienti affetti da Alzheimer, pari al 20%.

In questa applicazione la TMS viene usata per generare impulsi elettrici volti a stimolare, e riattivare, le connessioni sinaptiche che stanno alla base dello scambio di informazioni tra diverse aree del nostro cervello. I ricercatori si sono concentrati sull'indagine del *precuneus* (PC), regione del lobo parietale superiore, coinvolto nella memoria episodica e nella coscienza di sé stessi, e del *default mode network* (DMN), ovvero un'area centrale del cervello strettamente collegata all'ippocampo, che comprende porzioni della corteccia prefrontale, temporale e del cingolato. Questa struttura influenza la nostra consapevolezza dell'ambiente e delle cose che ci stanno succedendo, pertanto, da sempre, è stata presa in esame per l'indagine di questa malattia. Lo studio, sviluppato in due settimane di lavoro, ha utilizzato un approccio multimodale per valutare l'effetto della rTMS, ad alta frequenza, sul precuneus in 14 pazienti affetti da Alzheimer, di cui 7 donne. La TMS è stata utilizzata in combinazione con EEG per rilevare cambiamenti nella connettività neuronale. La ricerca ha dimostrato che, la stimolazione ripetuta del PC, determina un incremento della memoria episodica, ma non apporta miglioramenti in altri campi cognitivi. L'analisi congiunta delle due metodiche, inoltre, ha rilevato un miglioramento delle onde beta e un aumento dell'attività neurale nel PC, nonché modificazioni delle connessioni funzionali tra PC e DMN, più precisamente nell'area frontale mediale.

In conclusione, questo studio mostra come, tale metodo di indagine, sia promettente per i pazienti affetti da Alzheimer ai primi stadi. Il Dott. Koch, e il suo gruppo di ricerca, si sta concentrando sull'impiego della TMS come biomarcatore dell'Alzheimer. Al giorno d'oggi, il prelievo di liquido cerebrospinale e la PET, sono le metodiche in uso per il riscontro diagnostico

di tale malattia, entrambe però determinano un accumulo di beta-amiloide nel sistema nervoso. La TMS, pertanto, potrebbe essere un'alternativa a queste tecniche diagnostiche, meno invasiva e, per di più, a costo inferiore. Questo metodo di indagine permetterebbe di determinare il livello di connettività cerebrale in base a specifiche condizioni neurofisiologiche e, quindi, mostrare eventuali discostamenti da comportamenti tipici di un soggetto sano.

Nel frattempo, il professore ha avviato un progetto di sperimentazione in collaborazione con l'università di Harvard per l'utilizzo della TMS nel trattamento della depressione. Ad oggi non sono stati pubblicati i risultati, ma, se questo metodo dovesse rivelarsi efficace, potrà cambiare l'approccio al trattamento di un disturbo così frequente.

Un'altra malattia neurodegenerativa molto diffusa è il morbo di Parkinson. I sintomi più evidenti, legati a questo disturbo, sono correlati al movimento, tanto che i pazienti che ne sono affetti, mostrano difficoltà deambulatorie, rigidità e difficoltà nei movimenti, in particolare in quelli di precisione, e tremori.

Numerosi studi sono stati effettuati al fine di capire se la TMS possa essere un valido supporto terapeutico al decorso di questa patologia. È stato dimostrato (EM Khedr et al., 2003) come la rTMS possa fornire un aiuto sostanziale, nel recupero della funzionalità motoria, ai pazienti colpiti dal morbo di Parkinson. Hanno partecipato allo studio 36 soggetti che sono stati suddivisi, in maniera casuale, in due gruppi. Soltanto uno dei due ha ricevuto, realmente, i cicli di stimolazione (5 Hz, 2000 impulsi al giorno per 10 giorni consecutivi), mentre il secondo gruppo è stato sottoposto a stimolazione placebo. In seguito alla prima, alla quinta, alla decima seduta e dopo un mese, sono state effettuate diverse valutazioni, senza conoscere a quale gruppo il paziente esaminato appartenesse. Sono stati valutati la velocità di camminata, il punteggio sulla Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS), ovvero la scala di valutazione maggiormente utilizzata per valutare il livello della malattia, e veniva richiesta la compilazione di una autovalutazione. Per i pazienti sottoposti a reale stimolazione, sono stati riscontrati miglioramenti in tutti i settori di valutazione, mentre, per i pazienti sottoposti a stimolazione placebo, sono stati evidenziati miglioramenti solo sulla scala di autovalutazione. Una stimolazione ripetuta per 10 giorni ha portato a significativi miglioramenti a lungo termine delle funzioni motorie, evidenziando il potenziale terapeutico della rTMS per pazienti affetti da questo morbo.

## **TMS e depressione**

La depressione è un disturbo dell'umore che coinvolge diverse strutture del sistema nervoso centrale quali amigdala, ippocampo e corteccia prefrontale. I ricercatori dell'università di Munster hanno indagato tramite stimolazione magnetica transcranica il cervello umano, dimostrando che, difficoltà nella regolazione delle emozioni, sono correlate ad alterazioni anatomico-funzionali della corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC).

È stato riscontrato che, almeno un terzo dei pazienti che soffrono di disturbo depressivo maggiore, risultano resistenti a trattamenti farmacologici con antidepressivi e a psicoterapie. Poiché tale condizione colpisce circa 700.000 persone, ci si è concentrati sulla possibilità di trattare disturbi psichici e depressivi con tecniche non farmaceutiche. La prima terapia alternativa utilizzata in tale ambito fu l'elettroconvulsione, che richiede l'anestesia generale del paziente, per ridurre i rischi di crisi epilettica, con il conseguente rischio di danni permanenti. I primi studi effettuati con TMS a singolo impulso, per disturbi psicologici, furono effettuati alla frequenza di 0.3 Hz, stimolando le aree frontale e parietale da entrambi i lati, determinando un incremento della velocità di risposta al farmaco antidepressivo. Successivamente venne introdotta la TMS ripetuta, George (George et.al 1995) fu il primo a somministrarla con una frequenza superiore a 1 Hz sulla DLPFC sinistra su 6 pazienti, riscontrando una diminuzione dei punteggi di depressione sulla scala di valutazione Hamilton. La scala di Hamilton è una scala dimensionale che permette di valutare quantitativamente la gravità dei sintomi depressivi. È composta da 21 items ciascuno dei quali viene valutato dal clinico su di una scala a 4 o 5 punti. Il punteggio finale permette di stabilire la pervasività del disturbo depressivo grazie all'eterogeneità degli items. Esperimenti simili furono eseguiti da Pascual-Leon e dai suoi collaboratori (Pascual-Leon et al., 1996), riscontrando che gli stessi parametri di stimolazione potevano avere diversi effetti a seconda dello stato mentale del soggetto durante il trattamento. Essi dimostrarono che, la stimolazione della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra con rTMS, determinava un notevole calo dei punteggi nella scala di valutazione di Hamilton, da 25.2 a 13.8. Dei 17 pazienti sottoposti allo studio, 11 hanno mostrato un evidente miglioramento per due settimane, dopo cinque giorni di sessione giornaliera di rTMS, senza effetti collaterali significativi. Ad oggi ci si sta impegnando al fine di ottimizzare i parametri di stimolazione per poter introdurre la TMS ripetuta come terapia standard nel trattamento di tale disturbo. I treni di impulsi modificano le interazioni sinaptiche generando effetti inibitori o eccitatori. L'applicazione di sessioni multiple, nell'arco di qualche giorno, può indurre variazioni che persistono anche per qualche settimana; tale tecnica pertanto può essere impiegata per

normalizzare l'attività di quelle regioni cerebrali che sono coinvolte nel disturbo depressivo maggiore.

Uno studio condotto da Jonathan Downar, in collaborazione con il Canadian Institutes of Health Research, nel 2016 (Downar et al., 2016), ha valutato l'impiego di stimolazione ripetuta per il trattamento depressivo. L'utilizzo di rTMS ad uso terapeutico prevede un numero variabile, dalle 20 alle 30 sessioni, dalla durata di 30-60 minuti l'una, erogate una volta al giorno in ambulatorio sotto l'azione di personale addestrato e senza l'impiego di anestesie. I pazienti idonei per sottoporsi a questo tipo di terapia sono soggetti che risultano resistenti a trattamenti farmaceutici, ad oggi sono stati studiati perlopiù pazienti tra i 18 e i 65 anni, ma un'età diversa non ne determina la loro non idoneità. I pazienti sono stati sottoposti a screening per malattie mediche che inducono sintomi depressivi. Pazienti troppo gravi, ad esempio persone che più volte hanno tentato il suicidio, e per cui un trattamento di almeno quattro settimane risulterebbe troppo lungo, generalmente sono sottoposti a trattamenti più drastici. Nei soggetti sottoposti alla stimolazione transcranica è stato riscontrato un decremento dei livelli di attività nella corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC), ed è proprio su quest'area che si sono concentrati numerosi studi in quanto, si ritiene, che molte reti cerebrali, comprendenti le regioni corticali frontali, cingolata parietale e temporale, siano coinvolte nella regolazione dell'umore. Inoltre, sono molto accessibili per la stimolazione esterna e questo conferisce un vantaggio per lo studio. Gli effetti collaterali riscontrati in tale studio sono stati: mal di testa (25/30% dei casi) e dolore al cuoio capelluto (35/40% dei casi), entrambi tendono ad affievolirsi nel proseguire della terapia e possono essere tenuti sotto controllo con analgesici. Solo una piccola percentuale di pazienti (2/4%) ha interrotto la terapia a causa del dolore. In minime percentuali sono state segnalate convulsioni indotte da rTMS, minori dello 0.01%, o manie/ipomanie indotte nello 0.9% dei casi. Tale approccio è controindicato per chi presenta impianti metallici nel cranio e per chi già soffre di convulsioni e/o epilessia. Alcuni studi mostrano un importante miglioramento cognitivo in seguito al trattamento, in generale non sono mai stati riscontrati compromissioni significative. La metanalisi più recente, effettuata su 1371 pazienti e 29 studi condotti, ha riportato una risposta positiva del 29.3%. Questo approccio è molto diffuso in Canada, è disponibile, infatti, in 7 province su 10 dopo essere stata approvata dal sistema sanitario canadese nel 2002.

Negli USA l'rTMS ha ottenuto l'approvazione della Food and Drug Administration per il disturbo depressivo maggiore in pazienti inerti a uno, o più, trattamenti antidepressivi. La



stimolazione ripetitiva è una terapia utile dopo i farmaci e la psicoterapia, ma prima della terapia con elettroconvulsione, per pazienti resistenti ai trattamenti.

Una nuova frontiera per il trattamento è la stimolazione “theta burst” (TBS) che presenta ritmi più simili alla naturale attività del cervello, utilizzando stimoli ad alte frequenze rilasciati ogni 200 ms circa. I vantaggi della TBS vanno dalla minore intensità all’effetto più duraturo, richiedendo meno tempo per la stimolazione. Per ridurre la durata di trial clinici come quello sopracitato, si potrebbero utilizzare stimolazioni di tipo Theta Burst (che richiederebbe solo 1-3 minuti) o somministrare rTMS in più sedute giornaliere; una riduzione delle tempistiche consentirebbe ai pazienti di raggiungere prima un miglioramento delle proprie condizioni e consentirebbe a un numero maggiore di soggetti di beneficiare di tali trattamenti, ma non sappiamo ancora se questi protocolli siano più efficienti o meno della rTMS tradizionale. Un altro approccio è quello che prevede la somministrazione di stimolazione ripetuta più volte al giorno riducendo la durata complessiva del trattamento, ma i risultati effettivi di tale opzione sono ancora da studiare approfonditamente.

### **Applicazioni congiunta con altre metodiche**

La TMS può essere utilizzata in concomitanza con altri strumenti al fine di integrare le risposte ed ottenere informazioni più approfondite riguardo l’area di interesse. Per ottenere informazioni funzionali viene generalmente associata a fMRI, PET o EEG. Queste tecniche di imaging funzionale possono essere applicate prima, durante o dopo la TMS.

L’applicazione di tali tecniche previa stimolazione, permette di identificare, con precisione, le zone che dovranno poi essere investite con i campi indotti dalla bobina, e, di conseguenza, saranno di supporto per determinare il corretto posizionamento della strumentazione per TMS. La contemporanea applicazione delle due tecniche, invece, permette di determinare gli effetti della TMS in tempo reale, mentre, l’applicazione postuma, consente di valutare gli effetti a lungo termine che la stimolazione ha avuto sull’area cerebrale studiata.

Tra le cooperazioni citate, è bene spendere qualche parola in merito alla combinazione TMS+EEG. L’elettroencefalogramma mostra l’effettiva attività neuronale e permette di distinguere fenomeni facilitatori ed inibitori. L’unione di queste due tecniche fornisce un’ottima risoluzione temporale, dell’ordine dei ms, con conseguenti informazioni simultanee sull’attività cerebrale della regione sottostante. Questa combinazione viene spesso impiegata per il calcolo del periodo silente. Nonostante i numerosi benefici di questa collaborazione, si presenta il rischio di creare artefatti che risulteranno poi aumentati dalla presenza di amplificatori,

necessari per amplificare, i segnali EEG che sono di intensità molto ridotta, al massimo qualche centinaio di  $\mu\text{V}$ . Per ovviare al problema si possono utilizzare diverse tecniche quali: la disattivazione degli stessi, l'elaborazione offline o l'introduzione di un circuito "sample and hold".

La combinazione TMS+fMRI garantisce, invece, un'elevata risoluzione spaziale e fornisce informazioni circa le dinamiche neuronali.

## LIMITI DELLA TMS

Sebbene siano diversi i vantaggi legati all'utilizzo di questa tecnica di stimolazione, alcuni aspetti, ancora oggi, non sono stati chiariti in maniera approfondita e sono necessari ulteriori studi per capire, fino in fondo, ogni dettaglio e ogni conseguenza a livello cellulare dell'applicazione di tale tecnica. Passiamo ora ad esaminare alcuni limiti concreti con cui questa tecnologia si scontra.

Il primo limite della TMS, già accennato in precedenza, è il possibile surriscaldamento della bobina che potrebbe causare danni al paziente. A tal proposito, possono essere indotti dei sistemi di raffreddamento, come accennato nella descrizione delle diverse tipologie di coil.

Un altro grosso limite di tale stimolazione consiste nel fatto che agisca unicamente a livello superficiale e non sia in grado di stimolare gli strati più profondi, perché l'intensità del campo è inversamente proporzionale al quadrato della distanza. Alcune aree subcorticali sono raggiungibili con un incremento dell'intensità del campo stesso, ma non sono raggiungibili senza coinvolgere anche le aree corticali sovrastanti, questo rende difficile capire l'effettivo coinvolgimento delle varie regioni cerebrali, in quanto risulta complicato separare i segnali provenienti dalle due strutture. Inoltre, non siamo in grado di determinare con precisione quali neuroni e quale porzione della corteccia sia stata sollecitata, ed è per questo che spesso si affiancano tecniche di indagine di imaging funzionale.

Nonostante questi difetti, possiamo affermare che la TMS, ad oggi, è uno strumento che sta diventando sempre più indispensabile nell'indagine delle funzioni cerebrali e nel trattamento delle disfunzioni del cervello.



## **tDCS**

La stimolazione transcranica a correnti dirette (tDCS) è un metodo di stimolazione cerebrale, indolore e non invasivo, che consente di modificare l'eccitabilità corticale, tramite l'utilizzo di correnti continue a bassa intensità. Questa tecnica ha trovato diverse applicazioni cliniche e di ricerca.

## **STORIA**

Si può dire che l'interazione tra cervello e corrente elettrica ha da sempre affascinato l'uomo. Le prime testimonianze di questa combinazione risalgono ai tempi dell'impero romano quando, il medico dell'imperatore Claudio, Scribonio Largo, descrisse come il posizionamento di un siluro vivo sul cuoio capelluto, alleviasse il mal di testa grazie alla trasmissione di una forte corrente elettrica. La prima grande svolta in questa metodica arrivò nel diciottesimo secolo con l'invenzione, di Volta, della batteria elettrica nel 1799. Questa scoperta fu il decollo per lo studio degli effetti fisiologici delle correnti applicate al sistema nervoso centrale.

Il primo riscontro clinico, riguardo le applicazioni di corrente, vennero registrate da Giovanni Aldini, nipote di Galvani, che, insieme ad altri ricercatori, impiegò la stimolazione transcranica tramite correnti dirette, come metodo per la cura della depressione. Per tutto il corso degli ultimi due secoli, numerosi ricercatori hanno utilizzato la corrente galvanica per trattare diversi disturbi mentali, ma senza ottenere risultati soddisfacenti. Più recentemente, l'utilizzo della corrente applicata direttamente sul sistema nervoso centrale, era stata accantonata a causa dell'introduzione di psicofarmaci, dell'elettroconvulsione e dell'assenza di indicatori neurofisiologici affidabili. Nel mentre, però, la corrente è stata utilizzata, senza interruzioni, nel trattamento del dolore periferico e nella cura di disturbi muscoloscheletrici.

Solo alla fine del secolo scorso, gli studi di Priori (Priori et al.,1998) e suoi colleghi, segnarono la svolta definitiva nell'impiego di questa metodologia. I loro studi, e poi quelli di Nitsche e Paulus (Nitsche e Paulus,2000), dimostrarono che, la trasmissione di correnti deboli e dirette, potesse indurre cambiamenti nell'eccitabilità corticale in funzione della polarizzazione di tali correnti. In particolare, dimostrarono come, correnti anodiche, aumentassero l'eccitabilità corticale e come, correnti catodiche, la diminuissero. Inoltre, i numerosi vantaggi della tDCS, quali la sua non invasività e il fatto che abbia effetti transitori lievi e tollerabili, hanno determinato un incremento degli studi clinici con questa tecnica, in particolare per disturbi neuropsichiatrici, quali il disturbo depressivo maggiore, la tossicodipendenza o la riabilitazione in seguito ad ictus.



## **PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO**

A differenza delle altre tecniche di stimolazione cerebrale non invasive, la tDCS non induce una stimolazione sopra soglia della membrana neuronale, con conseguente generazione di potenziale d'azione, ma piuttosto, modula l'attività spontanea della rete neuronale. Ciò che accade, a livello neuronale, è un cambiamento del potenziale di membrana, in relazione alla polarizzazione della corrente trasmessa e tali possono perdurare anche per un'ora. Dall'elevata durata di tali effetti, si evince che questi non possono essere unicamente il risultato del cambiamento del potenziale di membrana, ma che saranno presenti anche modificazioni a livello dell'ambiente sinaptico. In uno studio condotto nel 2009 (Stagg CJ et al., 2009), sono stati analizzati, tramite spettroscopia a risonanza magnetica, i meccanismi neuronali conseguenti alla stimolazione transcranica a correnti dirette, evidenziando come la tDCS anodica determina una riduzione locale del neurotrasmettitore GABA, neurotrasmettitore inibitorio; mentre una stimolazione catodica determina una riduzione dell'attività neuronale glutammatergica che è, invece, eccitatoria. Inoltre, sono stati riscontrati effetti non sinaptici come, ad esempio, cambiamenti nella densità dei canali proteici sotto l'elettrodo stimolante.

In definitiva questa tecnica viene utilizzata per modificare l'eccitabilità cerebrale agendo sulla polarizzazione della membrana neuronale e, per fare questo, viene indotta una corrente grazie al posizionamento di due elettrodi alimentati. La corrente in questione non è un flusso di elettroni, come quella che scorre in un qualsiasi circuito elettrico, bensì un flusso di ioni che possono essere positivi o negativi, in quanto si trovano in ambito biologico. Gli ioni positivi saranno attratti dall'elettrodo negativo (catodo), mentre gli ioni negativi si dirigeranno verso l'elettrodo positivo, ovvero l'anodo.





## STRUMENTAZIONE

La tDCS viene realizzata con apparecchiature molto semplici, le correnti vengono erogate tramite due elettrodi collegati ad uno stimolatore. Gli elettrodi sono rivestiti da una spugna sintetica rettangolare, imbevuta in soluzione salina, al fine di aumentarne la conduttività, di dimensioni variabili dai 25 ai 35 cm<sup>2</sup> e uno spessore di circa 0.3 cm.

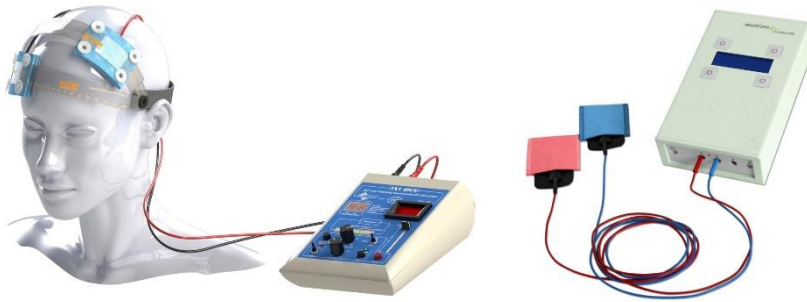
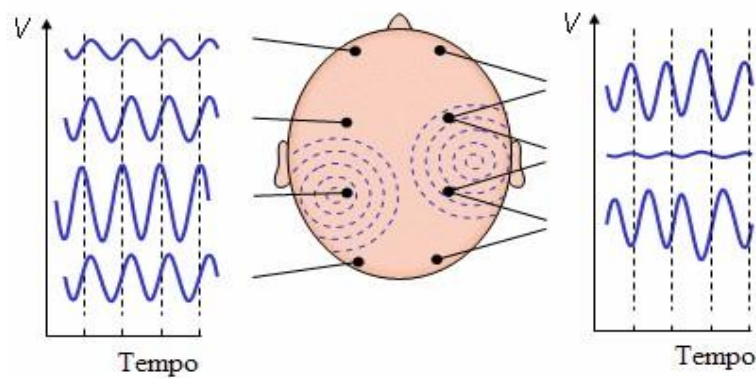


Figura 13. Strumentazione di base della tDCS

È bene precisare che, la tDCS non agisce unicamente sulla regione interessata, ovvero quella sottostante gli elettrodi, ma diffonde i propri effetti anche attraverso le aree cerebrali limitrofe, generando effetti indesiderati che possono alterare i risultati delle indagini effettuate.

La maggiore conseguenza di questo fenomeno è che, nel momento in cui si vuole studiare una specifica parte del cervello, è possibile rilevare segnali che non sono stati generati totalmente dall'area di interesse, ma che, in parte sono, il risultato della stimolazione indesiderata delle regioni adiacenti. Pertanto, è importante scegliere la giusta dimensione degli elettrodi. Una superficie di elettrodo maggiore assicura una minore densità di corrente, con un conseguente aumento della sicurezza per il paziente, ma una estensione minore consente di migliorare la messa a fuoco della corrente, riducendo la stimolazione indesiderata di ulteriori aree cerebrali. Alcuni accorgimenti, che vengono presi al fine di ottenere un fissaggio ottimale degli elettrodi e per prevenire danni al paziente sono, rispettivamente, l'utilizzo di una cuffia di materiale non conduttivo, e l'applicazione di un gel, composto da acqua e sale, sotto l'elettrodo per ridurre le abrasioni cutanee. In generale è molto importante il trattamento della cute previa applicazione degli elettrodi. Per prima cosa si controlla che il paziente non presenti lesioni o irritazioni, poi si procede con la detersione della cute e infine si applicano gli elettrodi spostando i capelli per creare una maggior aderenza con il cuoio capelluto.

Un aspetto estremamente importante è il posizionamento degli elettrodi, che viene effettuato tramite lo standard 10/20, in modo da garantire la corretta localizzazione dei siti di stimolazione. Il posizionamento può essere effettuato secondo due derivazioni, in relazione ai requisiti sperimentali, pertanto distinguiamo tra *derivazione monopolare* e *derivazione bipolare*. Nelle prime (dette anche unipolari), un elettrodo viene posto in un sito attivo, in corrispondenza dell'area che si vuole studiare, mentre il secondo viene posizionato su un sito elettricamente neutro (come mastoide, naso o mento), in questo modo il potenziale di ogni elettrodo viene espresso in relazione all'elettrodo neutro. Questo tipo di derivazione permette di registrare il livello assoluto di attività elettrica sottostante il sito attivo. Nelle bipolari, invece, entrambi gli elettrodi sono posizionati sopra siti attivi elettricamente, relativi all'area di interesse, e si registra il segnale corrispondente alla differenza tra le attività dei due siti.



**Figura 14.** A sinistra, sono rappresentati i segnali di 4 elettrodi posti su 4 regioni attive in riferimento a un elettrodo neutro di riferimento (non disegnato in figura) secondo la registrazione monopolare; a destra, 4 elettrodi posti su 4 siti attivi e vengono registrati i segnali di differenza secondo la derivazione bipolare.

Il sistema internazionale 10/20 detta le regole del posizionamento degli elettrodi, al fine di rispettare le corrispondenze tra aree corticali e applicazione degli elettrodi stessi. Lo standard prevede la localizzazione di 21 elettrodi secondo una precisa mappa mostrata in figura 15.

Le posizioni sono stabilite partendo da due punti di riferimento che sono il punto di *nasion* (avvallamento tra naso e fronte a livello degli occhi) e il punto di *inion* (protuberanza alla base del cranio sulla linea mediana del capo). A partire da questi due punti viene poi misurata la lunghezza del cranio, sul piano mediale e su quello trasversale. Il passo successivo è quello che permette di determinare le posizioni degli elettrodi dividendo le lunghezze, appena calcolate, in intervalli di ampiezza pari al 10% e 20% delle lunghezze totali, alternati come mostrato in figura 15. Possono poi essere utilizzati altri elettrodi, in posizioni intermedie, sempre a intervalli del 10%, le cui posizioni sono stabilite dalla Società Americana di Elettroencefalografia.

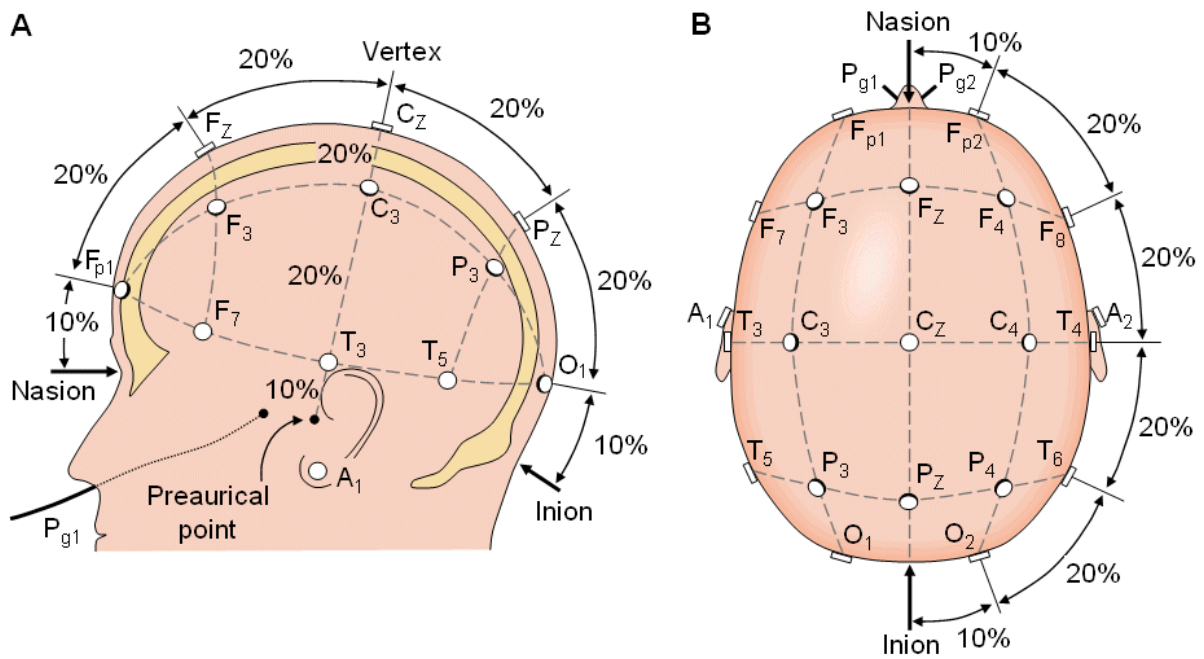


Figura 15. Posizionamento elettrodi secondo lo standard 10/20

L'intensità di corrente utilizzata per protocolli clinici e sperimentali varia da 0.5 a 2 mA per 20-30 minuti a sessione. Ogni sessione ha una durata variabile da una a più settimane e possono essere somministrate fino a due volte al giorno a seconda della tipologia di stimolazione.



## PARAMETRI DI STIMOLAZIONE

Come già è stato detto, il funzionamento di base della tDCS si basa sulla sua capacità di modificare il potenziale di membrana nelle aree sottostanti la stimolazione. Questo fenomeno dipende principalmente dalla densità di corrente, ovvero dalla corrente totale in rapporto all'area superficiale degli elettrodi. Ovviamente la densità non è l'unico parametro che determina quanta corrente arriva effettivamente ai neuroni, ma questo dipende anche da altri fattori quali intensità, durata dello stimolo e la modalità di stimolazione.

Per quanto riguarda l'intensità dello stimolo, è stato dimostrato che correnti di 3mA inducono dolore nel paziente. È per questo che si utilizzano stimolazioni di corrente fino ad un massimo di 2mA, determinando una densità di corrente pari a  $0.08 \text{ mAcm}^{-2}$ . Mantenendo costante la densità di corrente, si può poi modificare la durata degli effetti di stimolazione andando a variare la durata della stimolazione stessa. Aumentando il periodo di stimolazione si è registrato un incremento degli effetti post tDCS. Generalmente non vengono superati i 26 minuti di applicazione in quanto è stato dimostrato che, stimolazioni anodiche di durata superiore, producono effetti inibitori. Ovviamente la durata di stimolazione non può essere determinata prescindendo dal numero di stimolazioni che devono essere effettuate.

Il terzo parametro sopraelencato è la modalità di stimolazione che risulta essere, forse, il più importante dei parametri, in quanto, il flusso di corrente da un elettrodo all'altro, è proprio la causa degli effetti di polarizzazione indotta delle membrane neuronali sottostanti gli elettrodi, ed è quindi quel parametro che ci permette di decidere come modulare l'eccitabilità della corteccia andando ad aumentare o diminuire la funzionalità dell'area stimolata. Esistono diversi tipi di stimolazione.

La *stimolazione anodica* prevede il posizionamento dell'anodo sopra il sito di interesse e si utilizza il catodo come elettrodo di riferimento. Viceversa, nella *polarizzazione catodica* il catodo è posizionato sull'area da studiare e, a fungere da elettrodo di riferimento, è l'anodo.

È stato dimostrato che la stimolazione anodica aumenta l'eccitabilità dell'area corticale stimolata, determinando una depolarizzazione delle membrane neuronali. Al contrario una stimolazione catodica induce un'iperpolarizzazione delle membrane, con conseguente inibizione dell'area corticale stimolata. Gli effetti di queste stimolazioni possono essere resi più stabili e duraturi ripetendo più volte la stimolazione, ed ecco che il numero di stimolazione torna ad essere un elemento chiave per effettuare una stimolazione ottimale. Si evince, quindi, che, prima di procedere con la stimolazione, è bene studiare un piano che permetta di conciliare al meglio l'intensità di corrente (e di conseguenza la densità di corrente) con il numero di

stimolazioni da effettuare, specificando anche l'intervallo interposto tra i diversi stimoli, il tutto in funzione della modalità di stimolazione utilizzata.

In ambito sperimentale, quindi durante l'esecuzione dei vari trial, viene utilizzato un terzo tipo di stimolazione detta *sham* o *stimolazione placebo*. Sostanzialmente consiste di una stimolazione a macchinari spenti che viene poi utilizzata come parametro di controllo.

## **APPLICAZIONI DELLA tDCS**

La stimolazione transcranica con corrente continua e diretta trova numerosissime applicazioni in ambito clinico e sperimentale. Per quanto riguarda le applicazioni cliniche, ad oggi, la tDCS si trova alla base di molti protocolli terapeutici accoppiata ad altre tecniche, principalmente quando sono necessari trattamenti duraturi nel tempo. Alcuni esempi di applicazione clinica si riscontrano nella lotta al Parkinson e all'Alzheimer. In ambito sperimentale e di ricerca, invece, questa tecnica viene utilizzata per indagare le diverse aree cerebrali e per scoprire i meccanismi alla base del loro funzionamento. La tDCS viene spesso impiegata come metodo di indagine nelle nuove sperimentazioni, grazie alla sua non invasività e alla sua accessibilità economica. Infine, possiamo affermare che, l'ambito in cui questa metodologia di stimolazione è meno applicata, è quello diagnostico, a causa degli effetti indesiderati che determinano alterazioni della connettività di aree anche distanti dalla zona di stimolazione. Poiché le applicazioni della tDCS sono numerosissime e spaziano tra innumerevoli ambiti, verranno descritti solo alcuni dei contributi che questa tecnica ha fornito sino ad oggi e verranno analizzati solo gli ambiti in cui questo tipo di stimolazione trova maggiore impiego, ovvero l'ambito del linguaggio, delle malattie neurodegenerative e l'impiego della tDCS contro la depressione.

### **tDCS e linguaggio**

È evidente che il linguaggio sia uno dei prodotti più complessi del nostro cervello, ed è affascinante pensare che una corrente elettrica, mirata a stimolare specifiche aree cerebrali, possa riattivare il linguaggio in chi, per diverse cause, lo ha perso. In questo ambito è possibile osservare come la tDCS sia a tutti gli effetti una nuova frontiera nel campo delle neuroriabilitazioni. Due disturbi del linguaggio molto noti e diffusi sono l'afasia e la dislessia.

L'afasia consiste nella perdita, totale o parziale, a seconda della gravità del paziente, della capacità di produrre o comprendere il linguaggio, sia esso orale e/o scritto. Questo tipo di disturbo si presenta in seguito ad un evento scatenante che può essere un trauma, un tumore o un danno vascolare. La causa principale di afasia è l'ictus, basti pensare che il 21/38% di pazienti sopravvissuti ad un ictus, presenta afasia e che, solo negli Stati Uniti, colpisce 80.000 nuove persone ogni anno. In questo caso la tDCS viene accompagnata da terapia logopedica e riabilitativa al fine di garantire la stabilità di tale tecnica anche nel lungo periodo.

Uno studio pubblicato nel 2015 (Priyanka P. Shah-Basak et al., 2015) ha dimostrato come la stimolazione tramite correnti dirette possa essere un supporto concreto contro tale disturbo.

I soggetti sottoposti a questo studio mostravano afasia lieve-grave in seguito ad ictus.

Di 21 soggetti selezionati, solo 12 sono poi stati sottoposti allo studio, approvato dal Review Board dell'Università della Pennsylvania, composto da due fasi. Nella prima fase i pazienti sono stati sottoposti a quattro montaggi di elettrodi attivi (anodo nell'emisfero destro e catodo; anodo nell'emisfero sinistro e catodo) e a un montaggio fittizio, ed è stata studiata la capacità di nominare delle immagini, che venivano loro mostrate, prima e dopo ogni stimolazione, secondo i vari set up di elettrodi. Le diverse prestazioni sono state confrontate con il montaggio fittizio che fungeva da riferimento, per capire se i pazienti rispondevano in modo ottimale ad almeno un montaggio. Sette di loro hanno mostrato un significativo miglioramento delle prestazioni durante la prima fase, di questi, solo sei, hanno continuato nella fase due. I soggetti arrivati alla seconda fase sono stati randomizzati nel ricevere un'ulteriore stimolazione reale o una fittizia, i pazienti che hanno ricevuto stimolazione fittizia nella fase due, sono poi stati sottoposti a stimolazione reale dopo due mesi. La capacità linguistica è stata riesaminata durante un follow-up dopo due settimane e dopo due mesi dalla fine delle stimolazioni. Nella fase uno, il miglioramento medio è stato evidenziato in seguito alla stimolazione catodica sinistra, e sono stati riscontrati miglioramenti dopo due settimane e dopo due mesi nei pazienti sottoposti a reale trattamento durante la fase due. Questo studio dimostra come la tDCS possa migliorare il recupero dell'afasia post-ictus.

Il secondo disturbo del linguaggio menzionato è la dislessia, ovvero un disturbo che non permette, a chi ne è affetto, di leggere e di comprendere quanto scritto nella sua totalità, seppure sia in grado di capire il significato delle singole parole. Esistono due tipi di dislessia, quella evolutiva, che colpisce il 3% dei bambini in età scolare, e quella acquisita, che si manifesta in seguito a lesioni cerebrali e che determina l'incapacità di leggere correttamente.

Uno studio, condotto dalla Neuropsichiatria dell'ospedale pediatrico Bambino Gesù di Roma nel 2016 (Costanzo F. et al., 2016), ha dimostrato come la stimolazione cerebrale non invasiva possa aumentare la capacità di lettura in bambini con dislessia congenita. La ricerca è stata condotta su 19 dislessici, di età compresa tra i 10 e i 17 anni, suddivisi in due gruppi uno dei quali sottoposto a stimolazione placebo. Al gruppo di paziente realmente sottoposti a tDCS, sono stati applicate stimolazioni della durata di 20 minuti, tre volte a settimana, per sei settimane e, durante le sedute venivano, svolte attività affini a quelle effettuate durante l'attività logopedica. Al termine dello studio, è stato riscontrato un incremento del 60% della velocità e dell'accuratezza di lettura nei pazienti che avevano ricevuto realmente la stimolazione, mentre non sono stati riscontrati miglioramenti significativi nei pazienti sottoposti a stimolazione



placebo. Questo miglioramento si è prolungato nei soggetti per i sei mesi successivi allo studio, un risultato di questo calibro è conseguibile con un anno di logopedia senza ulteriori trattamenti. È evidente, quindi, come la tDCS possa fornire le basi per nuove riabilitazioni nel campo della dislessia. Come per l'afasia, è necessario che il trattamento con stimolazione sia affiancato da una terapia logopedica tradizionale, questa combinazione potrebbe infatti determinare una sostanziale riduzione dei tempi e dei costi nel percorso di cura dei disturbi del linguaggio.

### **tDCS, Parkinson e Alzheimer**

L'Alzheimer rappresenta circa il 50/60% dei casi di demenza, le cause di questa malattia sono ancora sconosciute, ma sappiamo che provoca il progressivo declino delle funzioni cognitive e il deterioramento della personalità del soggetto che ne è affetto. Ad oggi questo morbo non è guaribile, ma esistono alcuni farmaci che possono migliorare alcuni sintomi cognitivi e comportamentali. In Italia si stima che nel 2030 saranno 1.6 milioni le persone affette da demenza e oltre i 2 milioni nel 2050. L'elevata incidenza di questa patologia, e la gravità dei suoi sintomi, hanno spinto la ricerca verso nuove terapie, alternative a quella farmacologica, ed è qui che entra in gioco la stimolazione tramite correnti dirette.

In uno studio condotto nel 2011 (Sergio Boggio et al., 2011), 15 pazienti sono stati sottoposti a stimolazione tDCS bilaterali con elettrodi anodici, posti sopra le regioni temporali, e l'elettrodo di riferimento, posto sul deltoide destro. Sono state somministrate correnti dell'intensità di 2mA, in sedute dalla durata di 30 minuti al giorno, per cinque giorni consecutivi. Si è concluso che questo tipo di stimolazione determina un incremento della memoria di riconoscimento che persiste almeno per quattro settimane dopo la fine della sperimentazione.

Un ulteriore studio, pubblicato nel 2014 (Maria Cotelli et al., 2014), si è posto come obiettivo quello di capire se la tDCS, anodica applicata alla corteccia prefrontale dorsolaterale associata all'allenamento individualizzato, determinasse un aumento della memoria in pazienti affetti da Alzheimer, lo studio è stato condotto in relazione all'esecuzione di un compito di associazione nome-faccia su 36 soggetti. I pazienti sono stati divisi in maniera casuale in tre gruppi e poi sottoposti a trattamenti diversi. Il gruppo 1, è stato sottoposto a stimolazione anodica associata ad allenamento della memoria, il gruppo 2, è stato sottoposto a stimolazione placebo associata ad allenamento della memoria e, infine, il gruppo 3, è stato sottoposto a stimolazione anodica associata ad addestramento motorio. Tutti i pazienti hanno ricevuto stimolazione per due settimane, durante ogni settimana sono state somministrate cinque sedute dalla durata di 25

minuti l'una. Complessivamente i risultati hanno mostrato che, un miglioramento significativo nelle associazioni nome-volto, si ottiene dopo due settimane di allenamento di memoria, indipendentemente dal tipo di stimolazione effettuata; mentre l'allenamento motorio si è verificato essere ininfluenza nei processi di memorizzazione. Effetti benefici dopo tre mesi dalla sperimentazione sono stati riscontrati solo sui soggetti che avevano subito la stimolazione placebo, dimostrando che, stimolazione anodica associata ad allenamento mnemonico, non è l'abbinamento migliore per avere effetti a lungo termine.

Un'altra malattia neurodegenerativa largamente conosciuta e diffusa è il morbo di Parkinson, che coinvolge principalmente la sfera motoria, il tremore infatti ne è il sintomo più evidente. Non è da sottovalutare, però, il danneggiamento cognitivo che questa malattia comporta.

Con il proseguire della ricerca è stato riscontrato un calo nella produzione di dopamina nei pazienti affetti da questo morbo. Sono state pertanto ideate delle terapie farmacologiche atte a rimpiazzare la produzione di questo neurotrasmettitore, e, anche in questo caso, la ricerca di terapie alternative ai farmaci, permette l'entrata in scena della stimolazione transcranica a correnti dirette che va ad agire sulle aree cerebrali ipoattive, quali la corteccia prefrontale dorsolaterale, al fine di aumentare l'eccitabilità e l'attività delle stesse.

Uno studio pubblicato da Benninger e i suoi collaboratori nel 2011, (Benningern et al, 2011), ha valutato l'efficacia dell'applicazione di tDCS anodica, applicata alla corteccia prefrontale e motoria, in 8 sessioni per due settimane e mezzo. Le valutazioni sono state effettuate su un arco temporale di 3 mesi, in cui venivano analizzati andatura, tramite prove cronometrate, e la bradicinesia negli arti superiori. Lo studio è stato condotto su 25 pazienti, 13 dei quali hanno ricevuto stimolazione tDCS reale, mentre gli altri 12 sono stati sottoposti a stimolazioni placebo.

Nei soggetti sottoposti a stimolazione reale è stato riscontrato un miglioramento dell'andatura per un breve periodo e un miglioramento della bradicinesia per più di 3 mesi.

## **tDCS e depressione**

Un ulteriore ambito in cui la tDCS trova largo impiego è quello dei disturbi depressivi. Come per la TMS, anche la stimolazione tramite correnti dirette, viene utilizzata come trattamento per quei pazienti che presentano resistenza ai farmaci. Gli studi effettuati in questo settore sono molteplici, di seguito ne verranno riportati alcuni al fine di evidenziare l'efficacia di questa tecnica, in aspetti diversi di questo ambito patologico.

La depressione bipolare fa parte dei disturbi bipolari, ed è una malattia invalidante che influisce sulla sfera affettiva, sulla quotidianità e praticamente su tutti gli aspetti della vita della persona che ne soffre. In Italia questa patologia colpisce una persona su cento, le persone affette da questo disturbo presentano iperattività, durante le crisi, e apatia durante le fasi depressive. Generalmente le fasi depressive non si differenziano da quelle della depressione maggiore, pertanto questa malattia viene tipicamente trattata tramite l'assunzione di farmaci e in particolare regolatori dell'umore, antipsicotici e antidepressivi. Uno studio pubblicato su JAMA Psychiatry (Bernardo Sampaio-Junior, MD et al., 2017) si pone come obiettivo quello di valutare l'efficacia della tDCS, come trattamento alternativo nella cura della depressione bipolare. Lo studio è stato condotto presso l'ospedale universitario di San Paolo, in Brasile, ed ha visto il coinvolgimento di 59 adulti affetti da disturbo bipolare, che sostenevano una terapia farmacologica. I pazienti sono stati sottoposti a 10 sessioni, dalla durata di 30 minuti l'una, di tDCS anodica attiva prefrontale, con intensità di stimolazione pari a 2mA, o placebo, una volta al giorno nei giorni feriali, seguiti da una sessione ogni quindici giorni per sei settimane.

Il primo risultato riscontrato è che la tDCS determina miglioramenti, significativamente maggiori, rispetto alla stimolazione placebo (67,6% contro 30,4%). I vantaggi di questa tecnica sono stati riscontrati maggiormente nei pazienti affetti da una forma più acuta della malattia. L'obiettivo di questo gruppo di ricerca è quello di effettuare ulteriori studi su campioni più ampi al fine di valutare anche gli effetti duraturi di questo tipo di stimolazione.

Un ulteriore risultato importante è stato ottenuto da Sooma, un'azienda finlandese che produce dispositivi medici innovativi di neuromodulazione per il trattamento di disturbi psichiatrici e neurologici. Negli ultimi tempi ha investito le proprie forze nella commercializzazione di un dispositivo tDCS marchiato CE che può essere utilizzato come monoterapia, o in appoggio ad altri metodi, per la cura del disturbo depressivo maggiore. Nel 2016 sette istituti clinici hanno raccolto i loro risultati in seguito all'utilizzo di questo dispositivo. Tutti i centri hanno somministrato le stimolazioni utilizzando lo stesso protocollo, sottoponendo i pazienti a

correnti continue di 2 mA in sedute dalla durata di 30 minuti. Il trattamento era suddiviso in due fasi: quello di trattamento acuto, in cui veniva effettuata una sessione al giorno per 5 giorni a settimana, per due o tre settimane consecutive, e la fase di mantenimento, in cui veniva somministrata una sessione a settimana per sei mesi. Sono stati forniti dati per 28 pazienti, di età compresa tra i 19 e i 70 anni, affetti da depressione moderata o grave. Dei pazienti sottoposti all'esperimento, 14 erano sottoposti ad una cura farmacologica che non ha subito variazioni nel corso dello studio. In totale 13 pazienti hanno conseguito dalle 15 alle 17 sessioni, mentre gli altri 15 hanno ricevuto dalle 10 alle 14 sessioni.

Per ogni paziente sono stati riportati i riferimenti iniziali, ovvero prima dell'inizio della terapia, i punteggi dopo il trattamento e la scala di calcolo utilizzata per valutare il livello depressivo. La maggior parte dei soggetti ha rilevato un incremento concreto del punteggio dopo il trattamento e il 50% di loro ha riscontrato una remissione completa. Solamente due pazienti hanno sperimentato un peggioramento dei sintomi.

Si può notare una differenza sostanziale tra i risultati ottenuti dai pazienti che non assumevano farmaci, rispetto a quelli sottoposti a trattamento farmacologico in concomitanza allo studio.

I primi hanno riportato miglioramenti molto più consistenti. Così come sono stati conseguiti risultati migliori da chi ha effettuato il trattamento per tre settimane, rispetto a chi ne ha usufruito solamente per due. I due confronti sono mostrati nei grafici sottostanti.

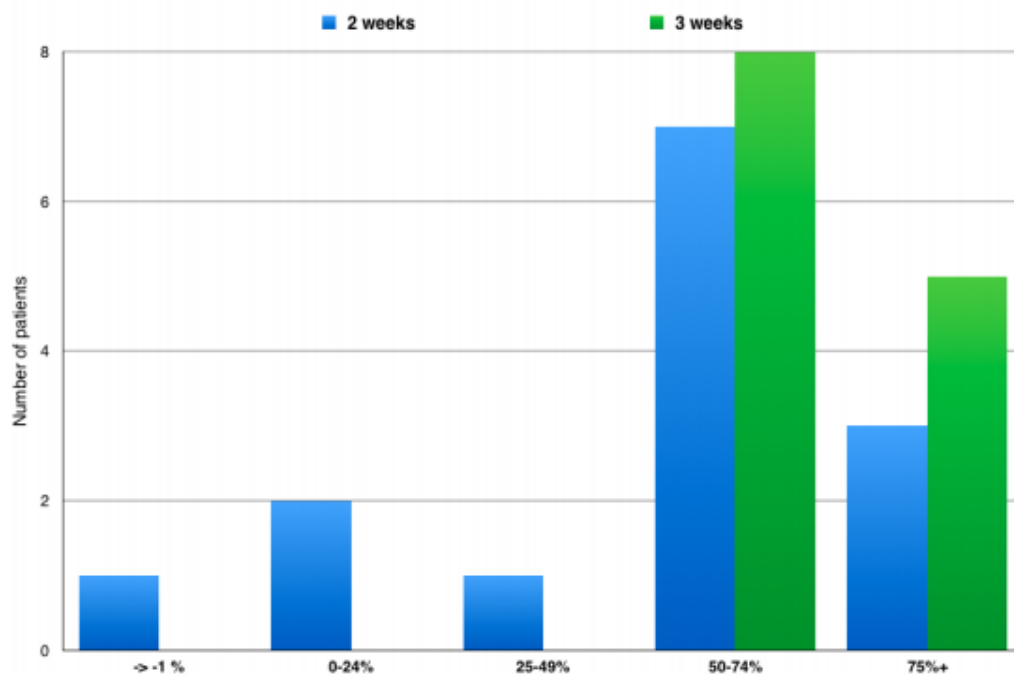
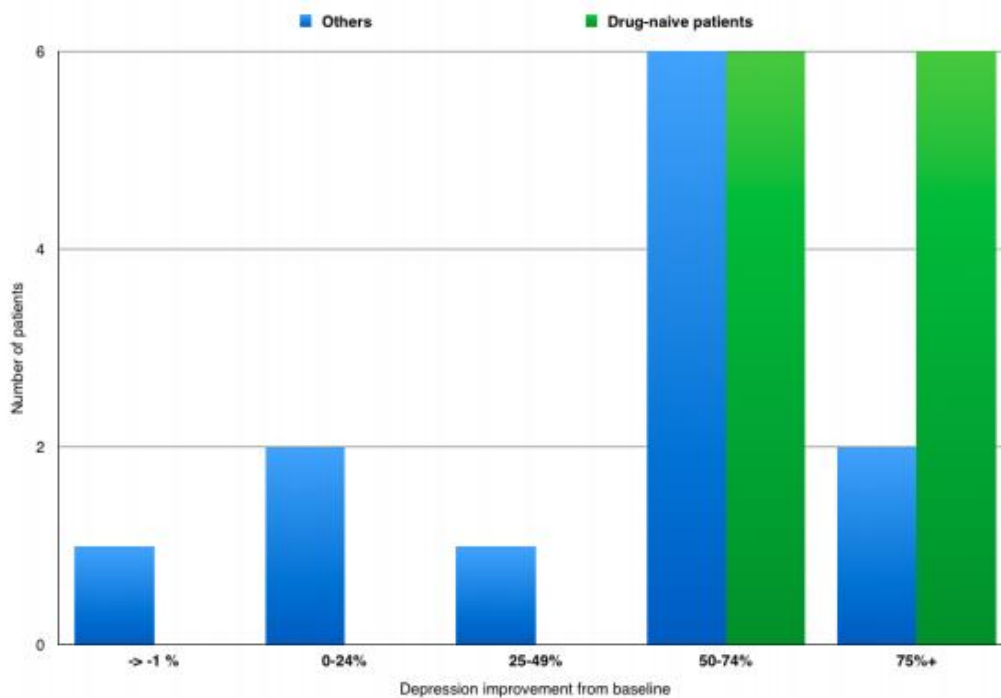


Figura 16. Il grafico riporta in ascissa la percentuale di incremento dei punteggi conseguita dai pazienti, in ordinata viene riportato il numero di pazienti che ha ottenuto quella percentuale di incremento. In blu sono rappresentati i pazienti che hanno usufruito del trattamento per due settimane, mentre in verde sono riportati i pazienti che ne hanno usufruito per tre settimane.



**Figura 17. Il grafico riporta in ascissa la percentuale di incremento dei punteggi conseguita dai pazienti, in ordinata viene riportato il numero di pazienti che ha ottenuto quella percentuale di incremento. In blu sono rappresentati i pazienti che hanno usufruito di un trattamento farmacologico in concomitanza alle stimolazioni di tDCS, mentre in verde sono riportati i pazienti che non sono stati sottoposti ad alcun trattamento farmacologica, ma solo a stimolazioni tramite tDCS**

Da questo studio si è concluso che la tDCS è una tecnica sicura e ben tollerata dai pazienti, in quanto non sono stati registrati eventi collaterali significativi, se non alcuni effetti minori quali arrossamento, prurito o mal di testa per qualche seduta. Si evince pertanto che questo è un trattamento terapeutico sicuro per quei pazienti che soffrono di depressione grave.



## LIMITI DELLA tDCS

È stato ampiamente dimostrato come questa tecnica possa fornire un supporto concreto in numerosissimi ambiti e quanto le sue potenzialità potranno essere sfruttate in nuove ricerche e nuovi settori. Nonostante i suoi numerosi vantaggi, anche la tDCS, come tutte le metodologie di stimolazione transcranica, presenta alcuni limiti in diversi campi.

Primi fra tutti, in ambito strumentale, la tecnologia utilizzata per effettuare questo tipo di stimolazione non è standardizzata a livello globale, inoltre non sono stati fatti molti progressi dal punto di vista dell'ottimizzazione tecnologica da che questa metodologia è stata inventata. La principale limitazione imposta dalla tecnologia, come già accennato diverse volte, consiste nella difficile focalizzazione dell'area colpita con la stimolazione. La conseguente modulazione di aree cerebrali circostanti, si riscontra nella rilevazione di segnali risultanti alterati da questi effetti indesiderati. Un rischio consistente, che nasce da questa mancata focalità, è che le stimolazioni indesiderate possano poi andare a modificare l'attività di aree cerebrali che svolgono funzioni di vitale importanza. È pertanto necessario essere molto precisi nel posizionamento degli elettrodi e nel determinare l'orientazione della corrente.

Un altro limite, non legato alla strumentazione, ma determinato dalla modalità di funzionamento della metodologia stessa, è il surriscaldamento del cuoio capelluto, che può generare abrasioni o bruciature pertanto, è di fondamentale importanza, esaminare e trattare il cuoio capelluto prima di applicare gli elettrodi al fine di valutare l'eventuale presenza di lesioni previa stimolazione e, in tal caso, è bene non intervenire al fine di evitare ulteriori danni.

Nonostante danni al cuoio capelluto siano possibili, non si corrono pericoli per quanto riguarda il tessuto cerebrale. Non sono mai stati riscontrati danni per stimolazioni di intensità pari a quelle utilizzate nei protocolli di sperimentazione.





## CONFRONTO E CONCLUSIONI

La stimolazione magnetica transcranica e la stimolazione transcranica a correnti dirette sono due metodologie di stimolazione cerebrale non invasive, ed è proprio questa peculiarità che le ha portate ad essere utilizzate in numerosi ambiti, alcuni comuni altri no.

Sono diversi gli aspetti che queste due tipologie di stimolazione condividono.

Prima fra tutte la capacità, di entrambi, di eccitare o inibire l'area sottostante e di prolungare il loro effetto anche per lunghi periodi successivi la stimolazione. Entrambe vengono utilizzate come metodo di indagine del cervello, al fine di cercare di comprendere funzioni e processi di precise aree cerebrali, che oggi ancora ci sfuggono, evidenziando la loro importanza e loro potenzialità in ambito sperimentale. Sia la TMS che la tDCS generalmente sono affiancate ad altre terapie contemporanee quali logopedia, o una qualsiasi terapia farmacologica. Ambo le tecniche possono essere supportate da imaging funzionali e possono anche essere utilizzate entrambe nella stessa terapia.

Un elemento di base, che le due tecniche hanno in comune, è la corrente, bisogna però ricordare che le due tecniche si basano su meccanismi di funzionamento sostanzialmente differenti.

La TMS fonda le sue basi su principi fisici scoperti molto più recentemente, rispetto a quelli su cui si basa la tDCS, ciononostante la stimolazione magnetica viene utilizzata da più tempo. Questa stimolazione utilizza un campo magnetico, prodotto da una corrente variabile che circola su una bobina, per indurre a sua volta una corrente elettrica nel tessuto cerebrale sottostante. Questa tecnica, pertanto, rispetta appieno il concetto di non invasività, in quanto non vi è alcun tipo di contatto tra la strumentazione e il paziente. Questa corrente indotta nel cervello determina l'attivazione di potenziali sopra soglia, con conseguente modificazione dell'attività neuronale di base e un successivo periodo silente, prima che venga ripristinata la normale attività cerebrale. La tDCS, invece, sebbene fonda le sue radici su principi fisici scoperti già ai tempi degli antichi romani, è una tecnica molto più recente che è stata impiegata in ambito clinico e sperimentale solo negli ultimi decenni. Sebbene anche questa tecnica venga definita non invasiva, lo è in maniera inferiore rispetto alla TMS. Il contatto tra elettrodi e cuoio capelluto infatti, sebbene non abbia mai determinato danni permanenti e/o estremamente gravi, può suscitare alcuni fastidi. Questa stimolazione utilizza una tecnologia molto più semplice per indurre correnti sottosoglia nel tessuto cerebrale, che non modificano radicalmente l'attività spontanea dei neuroni, ma la modulano soltanto.

In comune queste tecniche hanno la difficile focalizzazione dell'area di interesse. Nelle applicazioni di TMS per migliorare questo aspetto si gioca principalmente sulla geometria della bobina, mentre, per la tDCS, è fondamentale il posizionamento degli elettrodi.

Anche se applicate sugli stessi ambiti, spesso le due metodologie vengono utilizzate per effettuare analisi differenti. Ad esempio, per quanto riguarda l'ambito motorio, la TMS viene utilizzata principalmente per effettuare indagini anatomo-funzionali, per la mappatura delle aree corticali e per valutare l'eccitabilità delle diverse vie nervose, mentre la tDCS viene utilizzata principalmente con assetto clinico, si occupa cioè di incrementare la capacità di svolgere un determinato compito motorio. Quindi, mentre la prima ci permette di avere un approccio più approfondito per quanto riguarda la conoscenza di una determinata area, la seconda tecnica punta ad un approccio più pratico che vada a compensare il deficit della regione stessa.

È possibile pertanto concludere affermando che entrambe le tecniche hanno dimostrato di essere molto efficaci in diversi ambiti, e sono numerosi i risultati che confermano l'enorme potenzialità di queste metodologie. Diversi settori sono ancora da esplorare e sono ancora molteplici gli aspetti che non sono stati indagati, o che bisogna migliorare al fine di ottimizzare queste tecnologie, ciononostante si prospetta un ruolo sempre più marcato di questi metodi di stimolazione in ambito clinico e terapeutico.

## BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL, *Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex.*
- Benninger DH, Lomarev M, Lopez G, Wassermann EM, Li X, Considine E, Hallett M., *Transcranial direct current stimulation for the treatment of Parkinson's disease.*
- Bernardo Sampaio Junior, MD; Gabriel Tortella, PsyD; Lucas Borrione, MD et al., *Efficacy and Safety of Transcranial Direct Current Stimulation as an Add-on Treatment for Bipolar Depression A Randomized Clinical Trial.*
- Brunoni Andre Russowsky, Nitsche Michael A., Bolognini Nadia, Bikson Marom, Wagner Tim, Merabet Lotfi, Edwards Dylan J., Valero-Cabre Antoni, Rotenberg Alexander, Pascual-Leone Alvaro, Ferrucci Roberta, Priori Alberto, Boggio Paulo and Fregni Felipe, *Clinical Research with Transcranial Direct Current - Stimulation (tDCS): Challenges and Future Directions.*
- Carpi Federico, De Rossi Danilo, *Fenomeni Bioelettrici cap 17, Potenziali elettroencefalografici e potenziali evocati*
- Costanzo F, Varuzza C, Rossi S, Sdoia S, Varvara P, Oliveri M, Giacomo K, Vicari S, Menghini D., *Evidence for reading improvement following tDCS treatment in children and adolescents with Dyslexia.*
- Cotelli Maria, Manenti Rosa, Brambilla Michela, Petesi Michela, Rosini Sandra, Ferrari Clarissa, Zanetti Orazio, and Miniussi Carlo, *Anodal tDCS during face-name associations memory training in Alzheimer's patient.*
- Couturier Jennifer L., *Efficacy of rapid-rate repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression: a systematic review and meta-analysis.*
- Downar Jonathan, MD PhD, Blumberger Daniel M., MD MSc, and Daskalakis Zafiris J., MD Ph D, *Repetitive transcranial magnetic stimulation: an emerging treatment for medication-resistant depression.*
- Ferrucci Roberta, Mameli Francesca, Martins Oscar, Vergari Maurizio, Tadini Laura, Scarpini Elio, Fregni Felipe, Priori Alberto, *Prolonged visual memory enhancement after direct current stimulation in Alzheimer's disease.*

- Fox Michael D., Buckner Randy L., Liu Hesheng, Chakravarty M. Mallar, Lozano Andres M. and Pascual-Leone Alvaro, *Resting-state networks link invasive and noninvasive brain stimulation across diverse psychiatric and neurological diseases.*
- Fritsch G, Hitzig E, *Electric excitability of the cerebrum (Uber die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns).*
- Galvani L., *De viribus electricitatis in motu musculari, 1791*
- George MS, Wassermann EM, Williams WA, Callahan A, Ketter TA, Basser P, Hallett M, Post RM., *Daily repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) improves mood in depression.*
- Khedr E. M., Farweez H. M., Islam H., First published: 27 August 2003, *Therapeutic effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on motor function in Parkinson's disease patients*
- Koch G, Bonni S, Pellicciari MC, Casula EP, Mancini M, Esposito R, Ponzo V, Picazio S, Di Lorenzo F., Serra L., Motta C., Maiella M., Marra C., Cercignani M., Martorana A., Caltagirone C., Bozzali M., *Transcranial magnetic stimulation of the precuneus enhances memory and neural activity in prodromal Alzheimer's disease.*
- Nitsche MA, Paulus W. *Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. J Physiol. 2000 Sep 15*
- Oberman Lindsay, Edwards Dylan, Eldaief Mark and Pascual-Leone Alvaro, *Safety of Theta Burst Transcranial Magnetic Stimulation: A systematic review of the literature*
- Pascual-Leone A, Rubio B, Pallardó F, Catalá MD - The Lancet, 1996 - Elsevier, *Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression.*
- Penfield Wilder and Rasmussen Theodore. The Macmillan Company, New York, N.Y. 1950, *The cerebral cortex of man.*
- Priori A, Berardelli A, Rona S, Accornero N, Manfredi M., *Polarisation of the human motor cortex through the scalp. Neuroreport. 1998*
- Rossini PM, Berardelli A, Deuschl G, et al. (1999). *Applications of magnetic cortical stimulation. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 52, 171-185.*

- Shah-Basak Priyanka P., Norise Catherine, Garcia Gabriella, Torres Jose, Faseyitan Olufunsho, and Hamilton Roy H., *Individualized treatment with transcranial direct current stimulation in patients with chronic non-fluent aphasia due to stroke*
- Silverthorn Dee U. *Fisiologia umana. Un approccio integrato*. edizione italiana a cura di Vellea Franca Sacchi. Sesta edizione.
- Stagg CJ, Best JG, Stephenson MC, O'Shea J, Wylezinska M, Kincses ZT, et al., *Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation*.
- Valero-Cabrera Antoni, Amenguala Julià L., Stengela Chloé, Pascual-Leoned Alvaro, Coubard Olivier A., *Transcranial magnetic stimulation in basic and clinical neuroscience: A comprehensive review of fundamental principles and novel insights*.
- Ziemann U, Lönnecker S, Steinhoff BJ, Paulus W., *Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study*.
- <http://www.stateofmind.it/2017/06/stimolazione-magnetica-transcranica/>
- <https://www.neuroscientificallychallenged.com/blog/2014/5/21/history-neuroscience-fritsch-hitzi-motor-cortex>
- <http://www.stateofmind.it/2017/09/depressione-tdcs-farmaci/>
- <https://aitn.it/aree-tematiche/competenze/stimolazione-transcranica-a-correnti-dirette-tdcs/>
- [http://geasoluzioni.it/images/files/didattica/2017\\_torino/Principi%20fisici%20della%20TMS%20-%20Coils-%20soglia%20-%20CMCT%20\(Tonon\).pdf](http://geasoluzioni.it/images/files/didattica/2017_torino/Principi%20fisici%20della%20TMS%20-%20Coils-%20soglia%20-%20CMCT%20(Tonon).pdf)
- [http://www.neuropsychology.it/voce\\_glossario.asp?idglossario=248](http://www.neuropsychology.it/voce_glossario.asp?idglossario=248)
- <https://www.elsevier.com/about/press-releases/research-and-journals/dr.-anthony-t.-barker-wins-first-international-brain-stimulation-award>
- [https://www.mybestlife.com/ita\\_salute/news-2016-lug/07072016-depressione-stimolazione-transcranica.html](https://www.mybestlife.com/ita_salute/news-2016-lug/07072016-depressione-stimolazione-transcranica.html)
- <http://www.neuroscienzedipendenze.it/tms.html>
- <https://www.hsantalucia.it/news/alzheimer-stimolazione-magnetica-transcranica-tms-aiuta-il-recupero-della-memoria>
- [http://www.aupi.it/site/wp-content/uploads/2013/05/LINK-1\\_12-.pdf#page=8](http://www.aupi.it/site/wp-content/uploads/2013/05/LINK-1_12-.pdf#page=8)
- <https://reliawire.com/precuneus/>

- [https://www.lumsa.it/sites/default/files/UTENTI/u665/3\\_NEUROIMAGING.pdf](https://www.lumsa.it/sites/default/files/UTENTI/u665/3_NEUROIMAGING.pdf)
- <https://oggiscienza.it/2018/02/14/tms-depressione-terapia/>
- <http://www.tmswashington.com/theta-burst-treatment.html>
- <http://www.ospfe.it/reparti-e-servizi/reparti-dalla-n-alla-z/neurologia/neurologia-attivita/neurofisiologia/neurofisiologia-attivita/opuscoli-informativi/Potenziali%20Evocati.pdf>
- <https://focusonbrain.com/la-rivista/numero-3/rubriche/scale-di-valutazione-della-depressione>
- <https://aitn.it/aree-tematiche/competenze/stimolazione-transcranica-a-correnti-dirette-tdcs/>
- <https://www.jove.com/video/2744/posizionamento-elettrodo-e-montage-stimolazione-transcranica-diretta?language=Italian>
- <https://lamedicinainunoscatto.it/2016/12/afasia-e-tdcs-quando-il-linguaggio-prende-la-scossa/>
- <http://www.lrpsicologia.it/dislessia-e-dsl-basi-comuni-per-disturbi-differenti/>
- <http://www.ilpediatranews.it/2016/04/04/stimolazione-cerebrale-per-la-dislessia/>
- <http://www.annacantagallo.com/anna-cantagallo/anna-cantagallo-dislessia/>
- <https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/tools-della-salute/glossario-delle-malattie/alzheimer-2>
- <http://www.doctor33.it/clinica/depressione-bipolare-nuova-strada-terapeutica-da-stimolazione-transcranica/>
- <https://www.tantasalute.it/articolo/depressione-bipolare-sintomi-test-cause-e-cura/47227/>
- <https://soomamedical.com>

## RINGRAZIAMENTI

Vorrei sinceramente dire grazie a tutte le persone che, in un modo o in un altro, hanno reso possibile il fatto che io sia qui a discutere questa tesi oggi. È un traguardo che inseguo da tanto tempo e senza l'aiuto di ognuno di voi non ce l'avrei mai fatta.

Il primo ringraziamento, il più importante, va al mio relatore Cristiano Cuppini, che è per me un punto di riferimento e una fonte inesauribile di sostegno da molto tempo, quando anche il solo pensiero di scrivere una tesi era veramente lontano. Nell'ultimo anno mi ha aiutato a superare parecchie difficoltà e mi ha mostrato quante belle cose potessi fare, quando io stessa non credevo di esserne capace, e per questo gli sarò sempre grata.

Un altro grazie gigante va ai miei genitori che mi hanno sostenuta in ogni mia decisione, che mi hanno sempre guidata con i loro consigli, anche quando non li capivo. Grazie a voi che avete sempre creduto in me senza mai mettere in dubbio che ce l'avrei fatta.

A mia sorella, perché in questi anni mi ha dimostrato come ci si rialza quando tutto sembra buio, anche se lei forse non lo sa. Sei stata il mio esempio da seguire nei momenti no, anche se non sempre sono stata brava quanto te.

Infinitamente grazie a Laura, compagna di vita più che amica, perché mi ha sempre ascoltata e incoraggiata, ricordandomi che "in un corpicino così piccolo, ci sta dentro tanta forza".

Grazie alle ragazze della seconda fila, perché senza di voi questo viaggio non sarebbe stato lo stesso, e diciamolo, il nostro è stato pazzesco! Vi voglio bene.

Infine, voglio ringraziare tutto lo staff del Ghisa caffè, che in questi anni è stato la mia seconda casa, grazie ai titolari che mi hanno dato l'opportunità di entrare in questa grande famiglia e che hanno saputo capire le mie esigenze. Immensamente grazie alle mie colleghe che, prima di essere tali, sono delle vere Amiche, non vi ringrazierò mai abbastanza per avermi sempre capita e supportata. Grazie per i consigli e soprattutto per l'infinita pazienza. Non potevo chiedere di meglio.

Per concludere vorrei ricordare a me stessa di credere nelle mie capacità perché, anche quando sembrava impossibile, alla fine ce l'ho fatta.