



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELET-  
TRICA E DELL'INFORMAZIONE "GUGLIELMO MARCONI"

Corso di laurea in Ingegneria Biomedica

---

Elaborato in:  
Neural systems

# APPROCCI BIOINGEGNERISTICI PER IL TRATTAMENTO DI LESIONI AL MIDOLLO SPINALE

**Relatore:**  
Prof. Mauro Ursino

**Presentata da:**  
Ambra Cassani

---

Anno accademico 2023 - 2024



# Indice

<b>Introduzione</b>	1
<b>1 Lesioni al midollo spinale</b>	2
1.1 Comunicazione nel sistema nervoso . . . . .	2
1.2 Il midollo spinale . . . . .	3
1.3 Lesione del midollo spinale . . . . .	5
1.4 Classificazione clinica delle SCI . . . . .	6
1.5 Metodi diagnostici . . . . .	9
1.6 Dati e statistiche . . . . .	10
1.7 Impatto economico . . . . .	12
<b>2 Approccio biologico</b>	15
2.1 Neuroprotezione . . . . .	15
2.2 Rigenerazione neurale . . . . .	16
<b>3 Tecnologie di tipo ICT</b>	25
3.1 Neural Interface System . . . . .	25
3.1.1 Brain Computer Interface (BCI) . . . . .	29
3.1.2 Enhanced Feedback Neural Interface System (EF-NIS) . . . . .	36
3.1.3 Stentrode . . . . .	40
3.2 Neuroni Artificiali (AN) . . . . .	42
<b>4 Conclusioni</b>	45
<b>Bibliografia</b>	47



# Introduzione

Le lesioni al midollo spinale rappresentano una delle condizioni neurologiche più gravi e complesse, con impatti significativi sulla qualità della vita dei pazienti e delle loro famiglie. Esse possono derivare da traumi diretti, come incidenti stradali o cadute, oppure da cause patologiche, quali tumori, infezioni o altre malattie neurodegenerative. Indipendentemente dalla loro eziologia, queste lesioni sono spesso associate a una perdita permanente o temporanea della funzionalità motoria e sensoriale al di sotto del livello della lesione, compromettendo non solo la mobilità, ma anche le funzioni vitali come la respirazione, la regolazione della temperatura corporea e il controllo degli sfinteri. Nel capitolo 1 si approfondisce la classificazione clinica stabilita in base alla gravità del danno e delle conseguenze associate. Si stima che le persone affette da questo problema siano circa 15,4 milioni. Questo dato evidenzia l'importanza di concentrarsi sulla ricerca di metodi per migliorare o risolvere completamente la lesione. Questa tesi ha l'obiettivo di delineare quali siano gli approcci attualmente sotto studio, focalizzandosi sull'approccio biologico e l'approccio bioingegneristico. In particolare nel capitolo 2 si pone l'attenzione sui metodi biologici che comprendono l'utilizzo di farmaci per la protezione della zona lesa e delle cellule staminali per il ripristino del tessuto danneggiato. Nel capitolo 3 sono descritte le principali tecniche bioingegneristiche che mirano a ripristinare la corretta comunicazione tra il cervello e gli arti.

# Capitolo 1

## Lesioni al midollo spinale

Il sistema nervoso è una rete di connessioni altamente specializzata nel ricevere, trasmettere, controllare ed elaborare gli stimoli interni ed esterni del corpo. Esso è alla base delle funzioni muscolari, sensoriali, psichiche e intellettive degli animali.

### 1.1 Comunicazione nel sistema nervoso

La comunicazione nel sistema nervoso avviene attraverso le sinapsi elettriche o chimiche [9]. Le informazioni sono trasmesse tramite impulsi elettrici alle cellule nervose post-sinaptiche seguendo 3 step:

1. **Trasmissione assonale**

L'impulso elettrico passa attraverso l'assone del neurone presinaptico fino a raggiungere il terminale presinaptico

2. **Propagazione sinaptica**

L'arrivo dell'impulso elettrico al terminale presinaptico provoca il rilascio di vescicole contenenti il neurotrasmettitore nella fessura sinaptica (come mostrato in Figura 1.1). In questo modo il neurotrasmettitore si diffonde fino a raggiungere il neurone post-sinaptico e si lega ai recettori presenti sulla membrana. Questo provoca un cambiamento nel potenziale di membrana post-sinaptica

3. **Generazione di spike**

A seconda dei neurotrasmettitori rilasciati, i cambiamenti nel potenziale della

membrana postsinaptica possono essere sia eccitatori, ossia un temporaneo aumento del potenziale della membrana postsinaptica causato dall'ingresso di ioni carichi positivamente nella cellula postsinaptica, sia inibitori, rendendo il neurone postsinaptico meno propenso a generare un potenziale d'azione.

Qualsiasi interruzione della funzionalità dei neuroni, che deriva da malattie o lesioni, influisce in modo significativo sulla complessa rete di comunicazione.

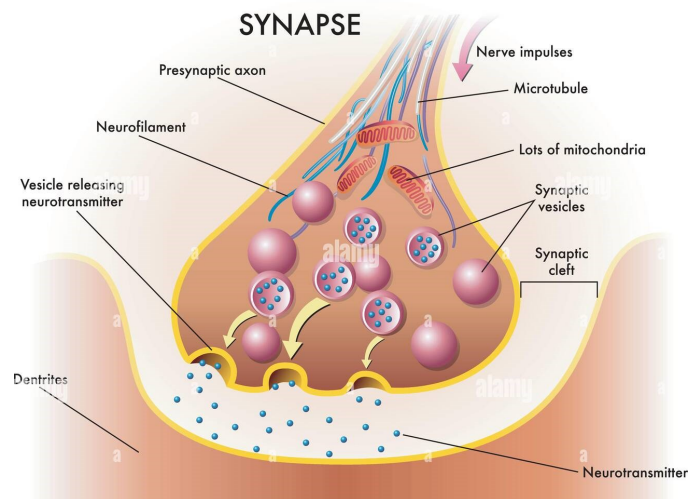


Figura 1.1: L'arrivo dell'impulso elettrico nel terminale presinaptico porta al rilascio del neurotrasmettitore.

## 1.2 Il midollo spinale

La comunicazione tra il cervello e gli arti è attuata dal midollo spinale (rappresentato in Figura 1.3) che comprende vie ascendenti e discendenti. Ogni via spinale è costituita da neuroni con lunghi assoni, che si estendono tra il cervello e il midollo spinale. Uno schema che mostra come avviene la comunicazione cervello-muscoli è illustrato in Figura 1.2.

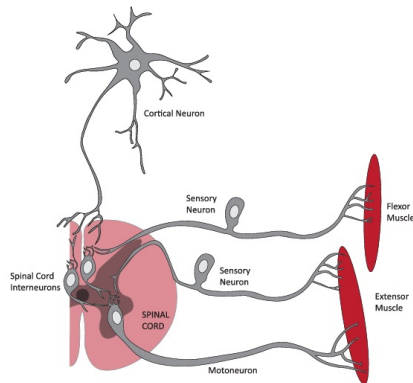


Figura 1.2: Schema di comunicazione cervello-muscolo.

Nei pazienti con lesioni al midollo spinale, (*SCI*)<sup>1</sup>, come *sclerosi laterale amiotrofica* (SLA)<sup>2</sup> o *ictus del tronco encefalico*<sup>3</sup>, il cervello è funzionante, ma il percorso che permette al segnale di passare dal cervello ai muscoli è interrotto. Questo comporta il cambiamento temporaneo o permanente delle normali funzioni motorie e sensoriali.

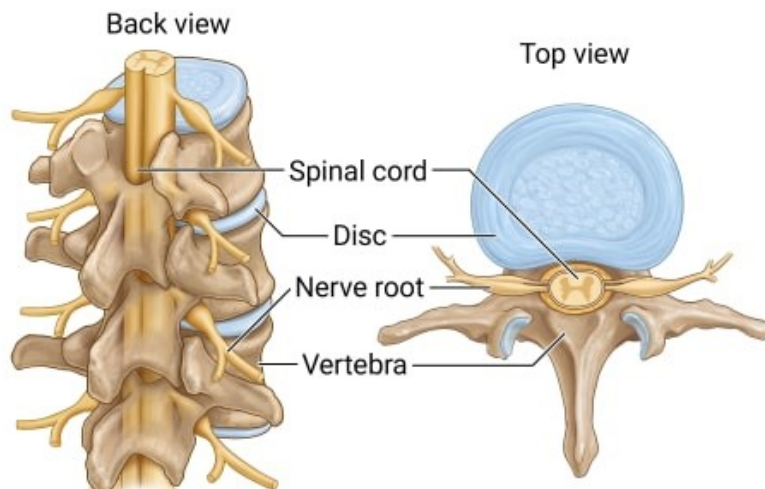


Figura 1.3: Raffigurazione del midollo spinale.

---

<sup>1</sup>Spinal Cord Injury

<sup>2</sup>Malattia neurodegenerativa progressiva che colpisce i neuroni motori, causando una perdita graduale del controllo muscolare

<sup>3</sup>Evento neurologico acuto causato dall'interruzione del flusso sanguigno al tronco encefalico, una regione fondamentale del cervello che controlla funzioni vitali come la respirazione, il battito cardiaco e la deglutizione



## 1.3 Lesione del midollo spinale

Le lesioni dei neuroni colpiti da traumi spinali avvengono in tre fasi consecutive, ovvero lesioni primarie, secondarie e croniche. [9]

### Lesione primaria

Questo termine si riferisce alla condizione che si verifica nei minuti successivi al trauma. La lesione interrompe immediatamente le vie assionali e danneggia le membrane cellulari, in modo diverso a seconda del trauma fisico. Dopo alcune ore le comunicazioni dei segnali neuronali sono influenzate dalla tossicità extracellulare a causa del rilascio di sostanze chimiche tossiche delle membrane danneggiate.

### Lesione secondaria

A seguito del trauma, da poche ore a settimane dopo la lesione, si sviluppa una condizione chiamata lesione secondaria. In questa fase, l'ambiente tossico deteriorato nel midollo spinale causa la morte dei neuroni così come delle cellule gliali. Le cellule gliali producono la guaina mielinica, che agisce come isolante e migliora la velocità di trasmissione delle informazioni lungo l'assone. La perdita di queste cellule speciali influisce significativamente sulla propagazione assonale a causa della perdita della guaina mielinica, nota come demielinizzazione. Inoltre, la rigenerazione assonale viene bloccata dalla formazione di una cicatrice gliale (come mostrato in Figura 1.4), che è una barriera tissutale formata nel sito della lesione. Nei casi gravi, la trasmissione assonale è bloccata a causa della demielinizzazione e dall'interruzione della comunicazione tra cervello e midollo spinale.

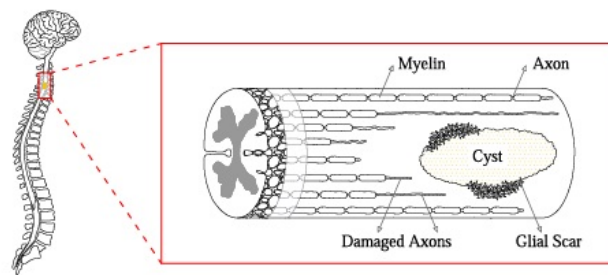


Figura 1.4: Cicatrice gliale che blocca la rigenerazione assonale.

### Lesione cronica

Questa fase copre il periodo che va dai giorni agli anni dopo la lesione. In questa fase, gli assoni lesionati sperimentano un tipo speciale di degenerazione, chiamata *degenerazione Walleriana*, che disconnette le parti distali degli assoni dai loro corpi cellulari mentre la cicatrice gliale continua a crescere. La degenerazione Walleriana comprende diverse fasi, in cui si verifica la morte assonale e i detriti assonali vengono rimossi dalle cellule gliali. Tuttavia, le parti prossimali delle fibre motorie sono conservate e continuano a funzionare. Il processo di degenerazione dei corpi cellulari è molto più lento rispetto a quello della degenerazione assonale. Per esempio, anche anni dopo la lesione, i corpi cellulari possono essere preservati. Questo rende possibile la registrazione dei segnali motori dalle vie discendenti del midollo spinale. Qualsiasi danno agli assoni lunghi delle vie discendenti del midollo spinale, che trasportano informazioni relative alle azioni motorie, danneggerà la rete motoria del midollo. Tuttavia, i circuiti al di sotto della lesione rimarranno intatti.

Il risultato complessivo dei meccanismi di lesione del midollo spinale è l'interruzione delle vie assonali situate all'interno del midollo spinale, che porta alla perdita della trasmissione delle informazioni sensoriali al cervello o dei segnali di controllo motorio ai muscoli, o entrambi contemporaneamente. Pertanto, ristabilire la comunicazione tra cervello e midollo spinale è necessario per mantenere le funzioni sensoriali e motorie della rete nervosa.

## 1.4 Classificazione clinica delle SCI

La colonna vertebrale è composta da 33 vertebre (rappresentate in Figura 1.5), tra cui:[1]

- 7 cervicali (collo)
- 12 toraciche (parte superiore della schiena)
- 5 lombari (parte bassa della schiena)
- 5 sacrali (sacro – situato all'interno della pelvi)

- 4 coccigee (coccige – situato all'interno della pelvi) <sup>4</sup>

Le vertebre hanno la funzione di stabilizzare il rachide e di proteggere il midollo spinale. In generale, più in alto si verifica il danno nella colonna vertebrale, più diffusa sarà la disfunzione che avrà la persona. Avere una lesione vertebrale non sempre significa che il midollo spinale è stato danneggiato. Allo stesso modo, si può verificare un danno al midollo spinale stesso, senza fratture o lussazioni delle vertebre.

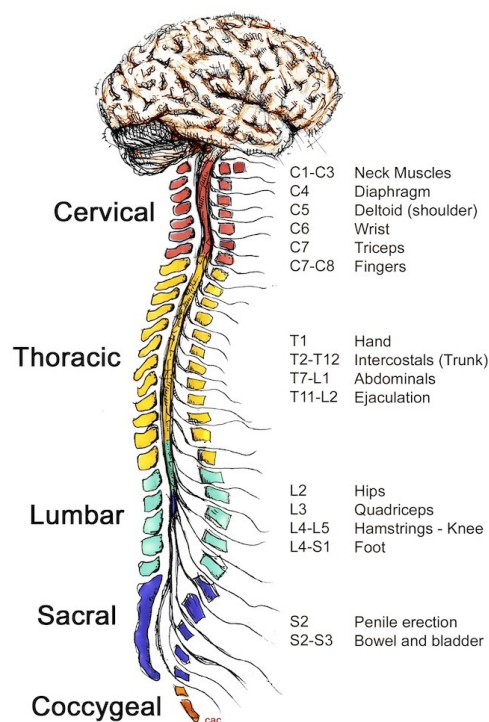


Figura 1.5: Rappresentazione della colonna vertebrale e relativa numerazione delle vertebre.

L'American Spinal Injury Association (ASIA) [1] ha pubblicato per la prima volta una classificazione delle lesioni del midollo spinale nel 1982, definendo le norme internazionali per la loro classificazione neurologica e funzionale. Queste si basano sulle risposte neurologiche, tattili e sensitive a punture di spillo testate in

<sup>4</sup>In età adulta, sia le cinque vertebre sacrali, sia le quattro vertebre coccigee si fondono a formare un unico osso.

ogni *dermatomero*<sup>5</sup>, e sulla forza dei muscoli che controllano dieci azioni chiave su entrambi i lati del corpo tra cui la flessione dell'anca (L2), un'alzata di spalla (C4), la flessione del gomito (C5), l'estensione del polso (C6) e l'estensione del gomito (C7). L'ASIA classifica in cinque categorie le lesioni traumatiche del midollo spinale in quanto le stesse possono essere complete, oppure incomplete, se il paziente mantiene una parte della sensibilità o della possibilità di controllo motorio al di sotto del neuromero leso:

**A** indica una lesione "completa" del midollo spinale dove nessuna funzione motoria o sensitiva è conservata nei segmenti sacrali S4-S5.

**B** indica una lesione "incompleta" del midollo spinale, dove è conservata la funzione sensoriale, ma non quella motoria al di sotto del livello neurologico interessato e comprende i segmenti sacrali S4-S5. Questa è tipicamente una fase transitoria e se la persona recupera qualsiasi funzione motoria al di sotto del livello neurologico interessato, essa diventa essenzialmente una lesione incompleta, cioè ASIA C o D.

**C** indica una lesione "incompleta" del midollo spinale in cui è conservata la funzione motoria sotto il livello neurologico interessato e più della metà dei muscoli chiave sotto il livello neurologico interessato hanno un grado muscolare inferiore a 3 (vedi classificazione riportata sotto), che indica un movimento attivo con gamma completa di movimenti contro la gravità.

**D** indica una lesione "incompleta" del midollo spinale in cui è conservata la funzione motoria sotto il livello neurologico interessato e almeno la metà dei muscoli chiave sotto il livello neurologico interessato hanno un grado muscolare di 3 o più.

**E** indica "normale", dove i segni motori e sensoriali sono normali. Si noti che è possibile avere lesioni del midollo spinale e deficit neurologici con una funzione motoria e segni sensoriali completamente normali.

---

<sup>5</sup>Regione cutanea innervata da una singola radice spinale posteriore (radice sensitiva) di un nervo spinale.

Se si considera la forza muscolare questa invece viene sostanzialmente classificata in cinque classi:

- 0 : paralisi totale
- 1: contrazione visibile e palpabile
- 2: movimento attivo per ROM (range di movimento articolare) completo in assenza di gravità
- 3: movimento attivo per ROM completo contro gravità
- 4: movimento per ROM completo contro resistenza moderata
- 5: movimento con forza normale

## 1.5 Metodi diagnostici

L'imaging è fondamentale per identificare accuratamente le lesioni [12] .

Per moltissimo tempo sono state utilizzate le radiografie tradizionali. Tuttavia, tecniche di imaging avanzate più sensibili, in particolare la tomografia computerizzata (CT, Computed Tomography) (vedi Figura 1.7) e la risonanza magnetica (MRI, Magnetic Resonance Imaging) (vedi Figura 1.6), sono ora più ampiamente utilizzate per valutare le lesioni spinali.

- **Radiografia tradizionale**

Le radiografie sono comunemente disponibili e possono rilevare instabilità o disallineamenti della colonna vertebrale, ma non forniscono immagini molto dettagliate e possono non rilevare lesioni al midollo spinale o spostamenti di legamenti o dischi che non presentano danni associati alla colonna vertebrale. Pertanto, quando i risultati delle radiografie sono normali ma si sospetta ancora una lesione del midollo spinale a causa del dolore o dei sintomi, vengono utilizzate scansioni CT o MRI.

- **CT**

La CT identifica le fratture con una risoluzione migliore rispetto alle radiografie tradizionali. La CT può rivelare fratture vertebrali e sollevare sospetti di lesioni del midollo spinale. Tuttavia, la CT ha una sensibilità inferiore per le lesioni dei tessuti molli.

- **MRI**

La MRI è più affidabile della CT nella ricerca di patologie dei tessuti molli, inclusa la lesione del midollo spinale. Questa tecnica può localizzare accuratamente il livello della lesione midollare. Inoltre, la MRI può aiutare nella prognosi.

Diversi sistemi di punteggio clinico possono prevedere la prognosi della SCI utilizzando i risultati della MRI. Le prime manifestazioni della SCI visibili tramite MRI includono compressione del midollo spinale, contusione, edema, sezione ed emorragia, nonché protrusione del legamento giallo.



Figura 1.6: Immagine MRI di una frattura all'altezza di C4 con dislocazione e compressione del midollo spinale.

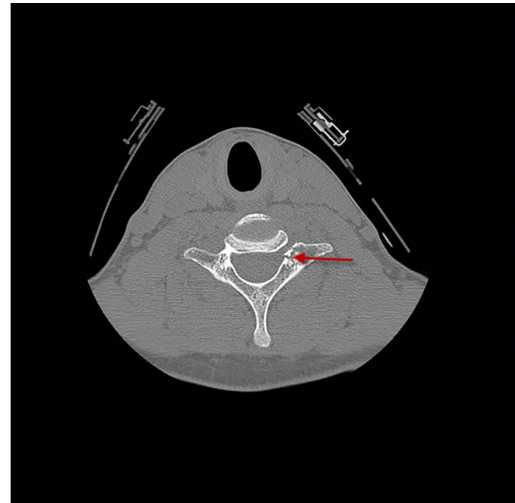


Figura 1.7: Immagine CT che mostra una frattura nella settima vertebra cervicale appena posteriore al corpo vertebrale.

## 1.6 Dati e statistiche

I dati relativi alle lesioni del midollo spinale non sono facili da reperire. In molti Paesi, i dati sono pochi e raccolti con metodi diversi, rendendo difficile ottenere stime affidabili a livello globale. [2]

Le lesioni del midollo spinale rappresentano una condizione medica di rilevante impatto sociale e clinico, con una prevalenza particolarmente alta tra i giovani.

Le statistiche indicano che il gruppo più colpito è quello degli individui compreso tra i 16 e i 30 anni, una fascia di età in cui gli soggetti si trovano nel pieno delle loro attività professionali e sociali. Circa l'80% dei pazienti con SCI è di sesso maschile.

Nei bambini molto piccoli le cause principali sono operazioni chirurgiche o patologie congenite, negli adolescenti e nei giovani adulti gli incidenti stradali. Dopo i 60 anni le cadute diventano la causa principale.

Ogni anno, negli Stati Uniti, si registrano circa 8.000 nuovi casi di SCI, una cifra che evidenzia l'importanza di sviluppare strategie di prevenzione e intervento sempre più efficaci. Una stima relativa al 2021 evidenzia la presenza di circa 15,4 milioni di persone affette da lesioni al midollo spinale.

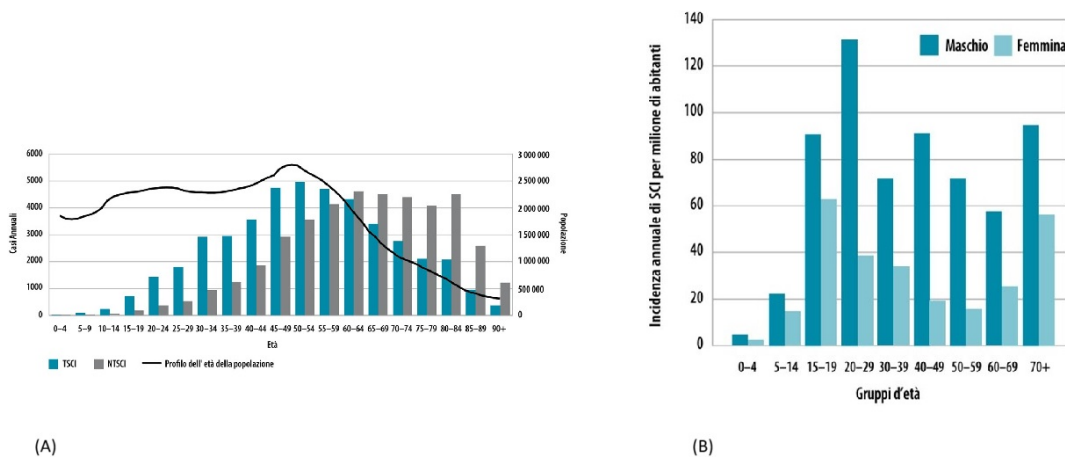


Figura 1.8: (A): dati relativi all'anno 2010 della popolazione canadese che evidenziano l'andamento dei casi annui in funzione dell'età. In blu sono rappresentate le lesioni traumatiche (TSCI), in grigio le lesioni non traumatiche (NTSCI); la linea nera delinea il profilo dell'età della popolazione.

(B): il grafico mostra l'andamento dei casi di SCI in funzione dell'età e del sesso nella popolazione canadese.

### Cause principali:

- Incidenti stradali
- Violenza

- Cadute
- Sport

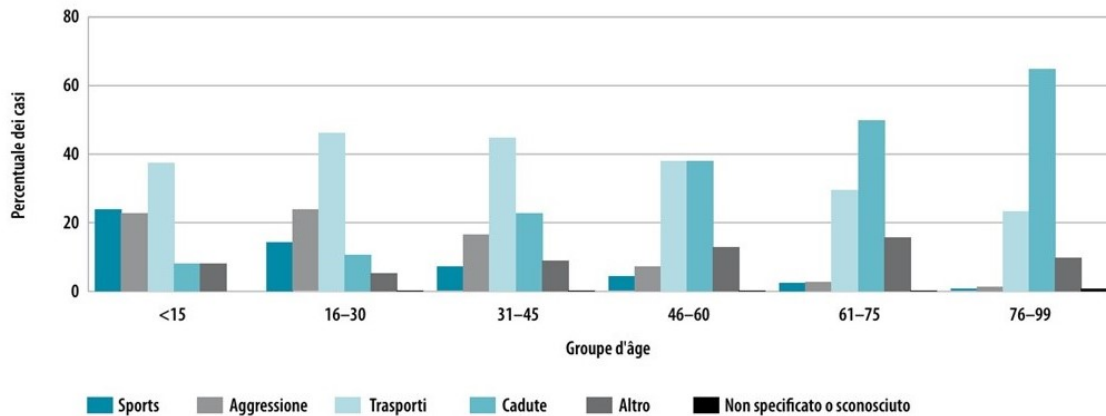


Figura 1.9: Cause di lesioni midollari nelle diverse fasce di età.

## 1.7 Impatto economico

Le lesioni al midollo spinale comportano costi significativi, sia diretti che indiretti, che contribuiscono a determinare il loro impatto economico e sociale. I costi diretti includono i servizi sanitari e la riabilitazione, con spese rilevanti legate a trasporti, diete speciali e assistenza personale. I costi indiretti, sia economici che non economici, possono derivare dalla perdita di produttività, dovuta alla disabilità o alla morte prematura, così come dall'isolamento sociale e dallo stress che ne consegue.

Vari fattori influenzano i costi delle lesioni midollari:

- **Gravità e natura della lesione**

Nelle lesioni midollari traumatiche, i costi dipendono dal livello e dalla gravità della lesione, mentre per le lesioni non traumatiche incidono le condizioni di salute risultanti.



- **Tempestività delle cure**

Il tempo che intercorre tra il momento della lesione e il primo intervento medico influisce sui costi. Durata della degenza ospedaliera: include sia il ricovero iniziale che eventuali successivi, causati da complicazioni o fallimenti nella gestione delle stesse.

- **Costi medici diretti**

Ad esempio, le spese per sedie a rotelle e ventilatori meccanici.

Il confronto dei costi tra Paesi risulta complesso, poiché le categorie di spesa, le tecniche di calcolo e la qualità dei dati variano. Anche all'interno di un singolo Paese, le stime dei costi diretti possono differire a seconda delle fonti utilizzate.

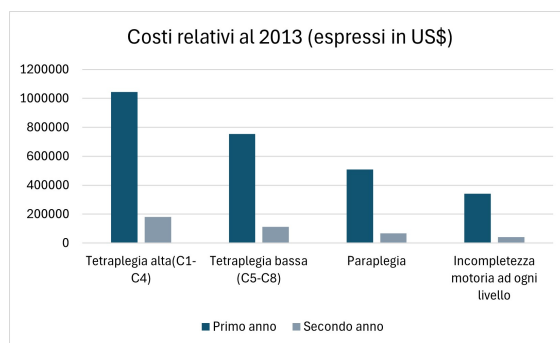


Figura 1.10: Costo nel primo e secondo anno dopo la lesione in base alla gravità del danno. I dati sono relativi alla popolazione statunitense nel 2013.

A causa del grande impatto sull'economia e sulla salute dei pazienti, in letteratura si trovano molti studi che cercano soluzioni innovative per risolvere il problema. Tra queste si sono delineate due strade. Una di carattere biologico e una tecnica che utilizza tecnologie di tipo *ICT*<sup>6</sup>.

<sup>6</sup>Information and Communication Technology



# Capitolo 2

## Approccio biologico

L'approccio biologico al trattamento delle lesioni al midollo si pone l'obiettivo di proteggere i neuroni sopravvissuti all'ambiente tossico che si crea subito dopo l'incidente e di ristabilire le connessioni sinaptiche e la corretta funzionalità promuovendo la rigenerazione delle strutture lese.

Le ricerche in ambito biologico si concentrano su due aspetti principali: la neuroprotezione e la rigenerazione neurale.

### 2.1 Neuroprotezione

La maggior parte degli studi recenti si sta concentrando sull'utilizzo di nanomateriali per somministrare farmaci, come ad esempio nanofili, nanoparticelle o nanofibre di carbonio. Questo metodo aumenta la *biodisponibilità*, ossia la velocità in cui la forma attiva di un farmaco raggiunge la circolazione sistemica. [7] In questo modo, si riducono le dosi necessarie e la tossicità sistemica. Inoltre, grazie alle loro dimensioni, i *nanovettori*<sup>1</sup> possono attraversare barriere come la barriera emato-midollare e le pareti delle membrane cellulari. Alcuni tipi di nanovettori possono avere proprietà aggiuntive, come la capacità di autoassemblarsi, eliminare specie reattive dell'ossigeno o agire come sonde per l'imaging.

---

<sup>1</sup>Particelle di dimensioni nanometriche utilizzate per trasportare e rilasciare farmaci, geni o altre molecole terapeutiche all'interno dell'organismo in modo mirato.

Tra i farmaci attualmente in uso c'è il *Metilprednisolone* (MP)[4], l'unico approvato dalla Food and Drug Administration (FDA), che riduce l'infiammazione ma con effetti collaterali gravi (polmonite, sepsi).

Sebbene alcuni farmaci neuroprotettivi portino ad un miglioramento, il risultato funzionale è limitato, poiché il recupero completo richiede anche il ripristino del circuito del midollo spinale.

## 2.2 Rigenerazione neurale

La tecnica di rigenerazione neurale consiste nell'utilizzo di terapie cellulari e ingegneria tissutale [9].

- **Terapia cellulare**

La terapia cellulare si focalizza principalmente sul trapianto e impianto di cellule.

Le *cellule staminali* hanno l'importante capacità di differenziazione che permette di trasformarsi in neuroni o cellule gliali. Molto utilizzate sono le *cellule di Schwann*, che sono responsabili della produzione delle guaine mieliniche nel sistema nervoso periferico e sono capaci di migliorare la rimielinizzazione e la ricrescita assonale.

Tra i vari studi sulle cellule staminali, si sono riscontrati benefici nei trapianti di *cellule progenitrici oligodendrocitarie (OPCs)*<sup>2</sup> derivate da *cellule staminali embrionali umane* (hESC) per migliorare il recupero funzionale.[6]

Gli esperimenti sono stati condotti su ratti a cui è stata indotta una lesione cervicale mediante contusione al livello C5 del midollo. Sono stati poi trapiantati OPC derivati da hESC per valutare il loro effetto sulla rigenerazione e sul recupero delle funzioni motorie. Il comportamento motorio dei ratti è stato monitorato attraverso test specifici, come la misurazione del passo degli arti anteriori.

---

<sup>2</sup>Cellule staminali neurali specializzate, precursori degli oligodendrociti, le cellule responsabili della produzione della mielina nel sistema nervoso centrale.

Questi trapianti hanno portato a significativi benefici. In particolare, hanno mostrato un effetto neuroprotettivo, preservando in misura maggiore la materia bianca e la materia grigia rispetto ai gruppi di controllo.

Per quanto riguarda la materia grigia, che contiene i corpi cellulari dei neuroni, è stata preservata in modo significativo nei ratti trapiantati rispetto ai ratti non trapiantati. Questo è un risultato cruciale, poiché la materia grigia è coinvolta nella trasmissione e integrazione degli impulsi nervosi.

La materia bianca, che contiene gli assoni mielinizzati responsabili della trasmissione degli impulsi tra le varie regioni del midollo e del cervello, è stata anch'essa preservata in misura maggiore. Questo è particolarmente importante poiché la degenerazione della materia bianca nelle lesioni spinali compromette gravemente la trasmissione del segnale motorio e sensoriale.

### Miglioramenti nella funzione motoria

I test comportamentali hanno confermato miglioramenti significativi nei ratti trapiantati rispetto ai controlli (vedi Figura 2.1 e 2.2).

I miglioramenti hanno riguardato la lunghezza del passo, il range di movimento dell'arto prossimale e i risultati nel test della scala di Basso Beattie e Bresnahn (BBB). Tale scala si utilizza per valutare il recupero motorio nei modelli animali con lesioni spinali. I punteggi della scala BBB mostrano valori più alti per i soggetti trapiantati rispetto ai non trapiantati.

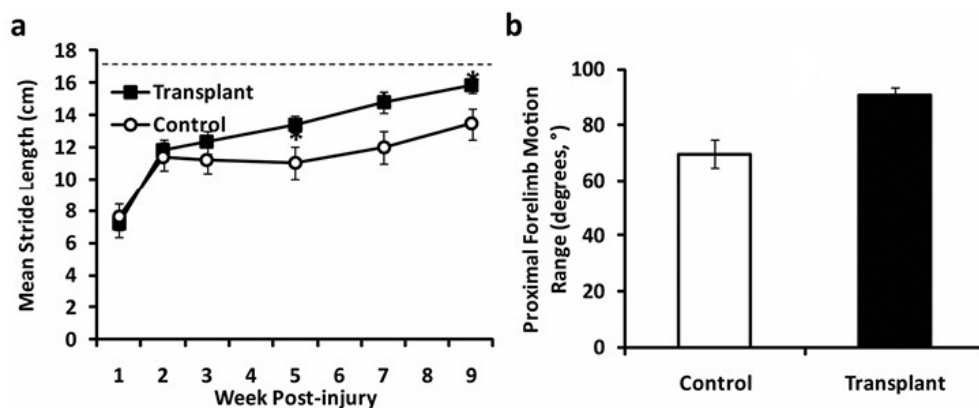


Figura 2.1: Effetti sulla funzionalità motoria: (a) recupero lunghezza media del passo degli arti anteriori in funzione del tempo; (b) ampiezza del movimento prossimale dell'arto anteriore, misurata in gradi per ratti trapiantati e di controllo.

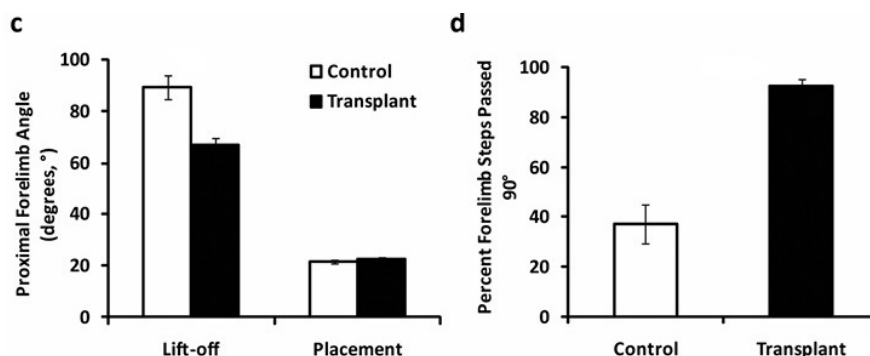


Figura 2.2: Effetti sulla funzionalità motoria: (c) aumento dell'ampiezza del movimento prossimale dell'arto anteriore è evidente nella posizione di sollevamento più che nel posizionamento; (d) incidenza dei passi che superano il piano perpendicolare è aumentata significativamente, passando da frequente (>50%) nel gruppo trapiantato a occasionale (50%) nel gruppo di controllo.

### Crescita e Mielinizzazione degli Assoni

- **Crescita assonale:** le OPC trapiantate hanno mostrato una notevole capacità di integrare il loro sviluppo nel tessuto nervoso danneggiato, favorendo la crescita di nuovi assoni. Questo suggerisce che le OPC non solo sopravvivono nel nuovo ambiente, ma sono in grado di contribuire attivamente alla rigenerazione del tessuto nervoso danneggiato.
- **Mielinizzazione:** molte delle OPC trapiantate si sono differenziate in oligodendrociti maturi, le cellule responsabili della produzione di mielina, la guaina che riveste gli assoni e consente la trasmissione rapida degli impulsi nervosi. La mielinizzazione degli assoni rigenerati è stata confermata tramite analisi istologiche, e questo è un segnale positivo poiché la mancanza di mielina è uno dei principali ostacoli alla rigenerazione nervosa nei casi di lesioni spinali.

### Sopravvivenza delle Cellule Trapiantate

Le cellule trapiantate hanno dimostrato un buon tasso di sopravvivenza anche diverse settimane dopo l'operazione. Questo è stato confermato dall'analisi dei tessuti, dove è stato osservato che un numero significativo di OPC è riuscito a sopravvivere nel sito della lesione e a differenziarsi nelle diverse linee cellulari (vedi Figura 2.3 e Figura 2.4), contribuendo attivamente alla rigenerazione e alla protezione delle aree lesionate del midollo spinale.

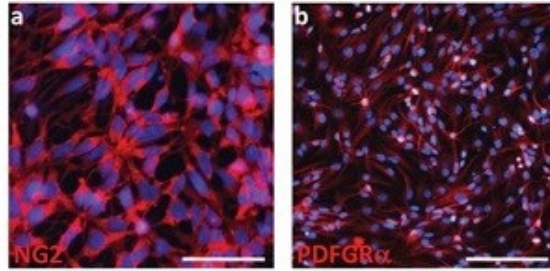


Figura 2.3: Analisi dell'espressione dei precursori di oligodendrociti derivati da cellule staminali (OPC): (a) immagine di cellule etichettate con la *NG2* (in rosso), un marker che identifica i precursori degli oligodendrociti; (b) immagine di cellule colorate dal recettore per la *tirosina chinasi*, un altro marker che evidenzia i precursori degli oligodendrociti.

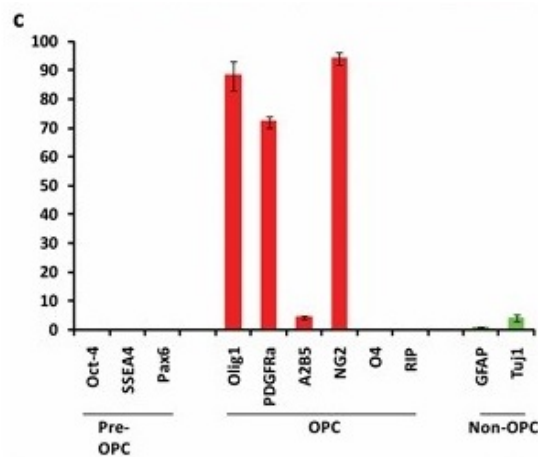


Figura 2.4: (c) Percentuali di cellule positive per diversi marker. Le barre rosse rappresentano l'espressione positiva dei marker associati agli OPC, e la barra verde indica un marker non associato agli OPC. Questo mostra che la maggior parte delle cellule è positiva per i marker OPC.

### • Ingegneria tissutale

Promuove la rigenerazione con l'uso di materiali che imitano la struttura naturale di supporto, come idrogel, scaffold di nanofibre e applicazioni ibride.

Tra i vari studi in questo ambito, è di particolare importanza il lavoro che esamina l'uso di una matrice bioattiva, costituita da molecole di peptide anfifilico (PA)<sup>3</sup> (vedi Figura 2.5), che si auto-assembla in nanofibre cilindriche

<sup>3</sup>Molecola formata da una catena di amminoacidi che presenta sia una regione idrofobica sia una regione idrofila. Questo permette al peptide di interagire sia con ambienti acquosi che con ambienti lipidici.

in presenza di fluidi fisiologici, come approccio terapeutico per promuovere la rigenerazione degli assoni.[11]

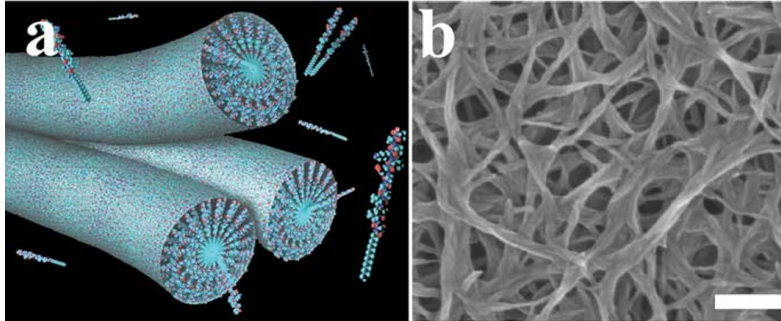


Figura 2.5: Struttura dell'IKVAV PA: (a) rappresentazione schematica delle singole molecole di PA assemblate in un fascio di nanofibre intrecciate per produrre l'IKVAV PA; (b) immagine al microscopio elettronico a scansione della rete di nanofibre in vitro. Scala: 200 nm

Gli esperimenti sono stati condotti su topi con lesioni spinali indotte. I topi sono stati trattati con una soluzione di PA contenente l'epitopo neuroattivo *IKVAV*. Le nanofibre create in vivo favoriscono la crescita di assoni e inibiscono la formazione della cicatrice gliale (astrogliosi), che ostacola la rigenerazione dei nervi.

Tra i risultati ottenuti ci sono:

- **Riduzione dell'astrogliosi**

Responsabile della cicatrice gliale. I risultati positivi si osservano in Figura 2.6.

- **Promozione della rigenerazione assonale**

- **Miglioramenti funzionali**

Questi riguardano un miglioramento significativo del comportamento motorio rispetto al gruppo di controllo.

- **Riduzione della morte cellulare**



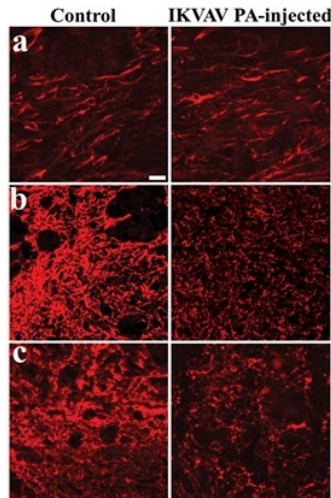


Figura 2.6: L’IKVAV PA riduce l’astrogliosi in vivo dopo lesione spinale: (a–c) Rappresentazioni di aree lesionate colorate con GFAP(rosso), un marker che individua gli astrociti. I due gruppi non differiscono a 4 giorni (a), ma a 5 settimane (b) e 11 settimane (c) c’è una significativa riduzione della cicatrizzazione gliale negli animali iniettati con IKVAV PA.

Un altro studio riguarda l’uso di un idrogel combinato con il *fattore di crescita basico dei fibroblasti* (bFGF) per trattare le lesioni del midollo spinale.[5]

Lo studio ha analizzato l’efficacia di un idrogel a base di HEMA-MOETACL<sup>4</sup>, contenente il fattore di crescita bFGF, per favorire la rigenerazione del tessuto nervoso e il ripristino delle funzioni motorie nei ratti con lesioni spinali.

Nei ratti, sono state indotte lesioni spinali con una tecnica che simula un grave danno al midollo spinale. Dopo cinque giorni dall’infortunio, è stato impiantato un idrogel nel sito della lesione. I ratti sono stati divisi in più gruppi:

- un gruppo ha ricevuto solo l’idrogel
- un altro gruppo ha ricevuto l’idrogel con bFGF
- gruppi di controllo non hanno ricevuto alcun trattamento specifico

---

<sup>4</sup>HEMA è un polimero comunemente utilizzato nei biomateriali mentre MOETACL è il cloruro di trimetilammonio, che conferisce caratteristiche specifiche all’idrogel. La combinazione HEMA-MOETACL/bFGF è stata studiata per favorire la rigenerazione del tessuto nervoso e il recupero funzionale nei ratti con lesione spinale.

Dopo l'impianto, i ratti sono stati monitorati per otto settimane, durante le quali sono stati valutati vari parametri:

- **Recupero motorio**
- **Regressione della cavitazione**

L'estensione del danno tissutale (come la formazione di cisti o cavità) è stata osservata a livello istologico.

- **Ripristino funzionale**

### Miglioramento funzionale

I ratti trattati con l'idrogel contenente bFGF hanno mostrato un miglioramento significativo nelle capacità motorie rispetto ai ratti che hanno ricevuto solo l'idrogel o che non sono stati trattati.

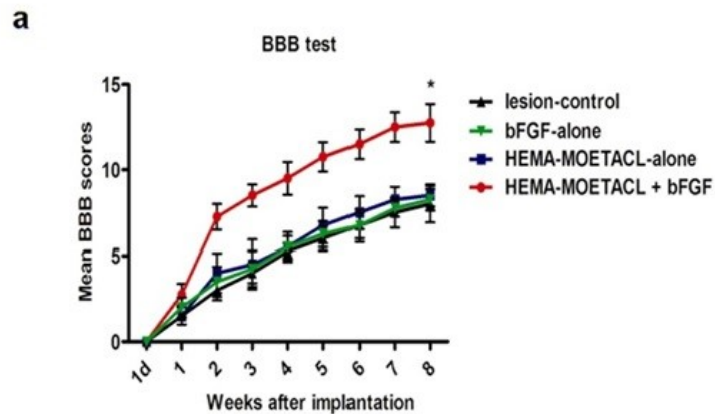


Figura 2.7: Miglioramento delle funzionalità motorie, monitorate con il test della scala BBB.

### Rigenerazione del tessuto

Il gruppo che ha ricevuto l'idrogel con bFGF ha mostrato una migliore rigenerazione del tessuto nervoso, con una riduzione significativa della formazione di cisti nel sito della lesione. L'idrogel ha formato una sorta di ponte tra i segmenti danneggiati del midollo spinale, favorendo la rigenerazione (vedi Figura 2.8).

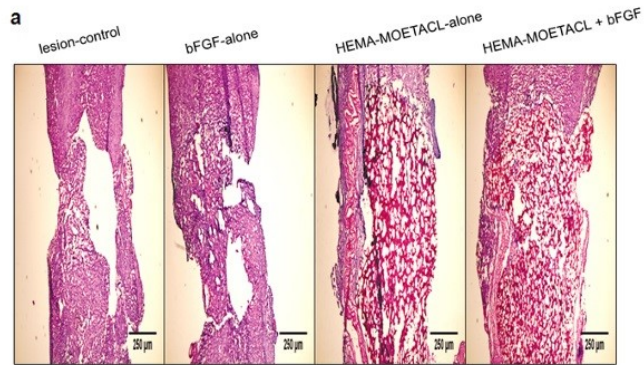


Figura 2.8: Riduzione della cavitazione dopo l’impianto di bFGF/HEMA-MOETACL (Per misurare il volume delle cavità e la percentuale di cavitazione, sono state esaminate sezioni istologiche colorate). Immagini rappresentative di sezioni longitudinali del midollo spinale lesionato otto settimane dopo l’impianto.

### **Conduzione Nervosa migliorata**

Le analisi elettrofisiologiche hanno evidenziato che i ratti trattati con il bFGF-idrogel avevano una migliore conduzione degli impulsi nervosi, segno che il trattamento aveva aiutato a ristabilire le connessioni neurali tra le aree danneggiate.



# Capitolo 3

## Tecnologie di tipo ICT

Le tecnologie dell'informazione e della comunicazione (ICT, dall'inglese Information and Communications Technology) comprendono i metodi e le tecniche impiegati per trasmettere, ricevere ed elaborare dati e informazioni.

Nel contesto delle lesioni al midollo spinale, l'uso delle ICT si focalizza sulla comunicazione tra cervello e midollo spinale. In questo campo, le tecnologie ICT si suddividono principalmente in due categorie: i sistemi di interfaccia neurale (NIS, Neural Interface System) e i neuroni artificiali (AN, Artificial Neurons).[9]

### 3.1 Neural Interface System

I passaggi che permettono al sistema di interfaccia neurale di funzionare sono:

1. registrazione di impulsi nervosi
2. elaborazione del segnale
3. ripristino della funzionalità

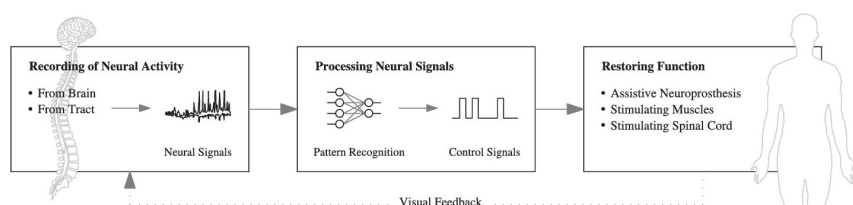


Figura 3.1: Schema sulla struttura del NIS.

## 1. REGISTRAZIONE DI IMPULSI NERVOSI

Il registratore di impulsi ha il compito di captare i segnali. Questi si possono ottenere tramite la registrazione dal cervello o direttamente dal midollo spinale.

### **Registrazione dal cervello**

In base all'applicazione che se ne deve fare e al grado di invasività richiesto, si possono scegliere metodi differenti che registrano il segnale. Tra le tecniche non invasive troviamo l'elettroencefalogramma (EEG), la magnetoencefalografia<sup>1</sup> (MEG) o la risonanza magnetica funzionale<sup>2</sup> (fMRI). Gli svantaggi di queste tecniche sono la risoluzione spazio-temporale scarsa, il basso rapporto segnale rumore (SNR) e la bassa sensibilità ai cambiamenti alle alte frequenze. Questo fa sì che non siano molto indicate per le dinamiche temporali di breve durata di molti processi cerebrali. Per migliorare i problemi legati al rapporto segnale-rumore e alla sensibilità dello strumento si utilizzano metodi invasivi come elettrocorticografia<sup>3</sup> (ECoG) o impianti di elettrodi intracorticali. Con l'ECoG si può registrare l'attività di gruppi di neuroni e fornire potenziali di campo correlati al movimento grazie alla presenza di elettrodi impiantati sulla superficie del cervello. Chiaramente queste procedure comportano un rischio molto maggiore dato dalla necessità di dover intervenire chirurgicamente per impiantare gli elettrodi e inoltre l'operazione porta alla formazione di tessuto cicatriziale che può ostacolare la conduzione del segnale.

### **Registrazione dal midollo spinale**

Le ricerche si sono focalizzate principalmente sui tratti discendenti laterali del midollo spinale, che rappresentano un'opzione promettente per l'intercettazione dei segnali motori volitivi. [13] Grazie alla convergenza degli output corticali lungo un'unica via nei tratti discendenti, le interfacce neurali che interagiscono con il midollo spinale hanno il potenziale di acquisire segnali volitivi particolarmente ricchi d'informazioni, riducendo al contempo la necessità di un'ampia copertura anatomica.

Tra le aree più studiate, spicca il tratto corticospinale. Uno studio [10] ha infatti riportato risultati positivi nell'utilizzo di un array multi-elettrodo su un substrato

---

<sup>1</sup>Tecnica che misura i campi magnetici generati dall'attività elettrica dei neuroni nel cervello.

<sup>2</sup>MRI che misura l'attività cerebrale rilevando i cambiamenti nel flusso sanguigno.

<sup>3</sup>Tecnica di monitoraggio neurofisiologico che misura l'attività elettrica della corteccia cerebrale utilizzando elettrodi posizionati direttamente sulla superficie del cervello.

flessibile. Attraverso questo sistema sono state raccolte informazioni sul movimento. Dalle analisi si è potuto concludere che anche la registrazione di segnali dal midollo porta ai risultati attesi.

## 2. ELABORAZIONE DEL SEGNALE

L'elaborazione dei dati viene effettuata in 3 step:

- individuazione delle caratteristiche
- riduzione della dimensione e selezione delle caratteristiche
- classificazione o modellazione predittiva

Quando vengono acquisiti gli impulsi nervosi, si ottiene un segnale dato dalla combinazione di tante informazioni. Non tutte sono utili per un dispositivo che ha l'obiettivo di ripristinare la motilità. L'eliminazione del rumore non è però la sola cosa da fare perché una delle sfide più difficili da affrontare è quella di trovare le caratteristiche del segnale che possano essere usate come dati di input dalla macchina. Queste devono essere in numero limitato e devono comprendere solo le informazioni necessarie al movimento specifico di interesse. Nel passaggio di riduzione della dimensione e selezione delle caratteristiche quello che viene fatto è una selezione che elimini le parti ridondanti. Per fare esistono dei metodi che vengono elencati in Figura 3.2.

Process	Method
<i>Feature extraction</i>	AutoRegressive component
	Wavelet transform
	Common spatial pattern
	Matched filtering
<i>Dimension reduction</i>	Principal component analysis
	Independent component analysis
<i>Feature selection</i>	Genetic algorithm
	Sequential selection
<i>Classification</i>	Linear discriminant analysis
	Support vector machine
	Bayesian statistical classifier
	K-nearest neighbor classifier
	Artificial neural network

Figura 3.2: Tabella con l'elenco dei metodi comunemente utilizzati per l'estrazione delle caratteristiche, la riduzione delle dimensioni, la selezione delle caratteristiche e la classificazione nei sistemi di riconoscimento dei pattern.

Un'altra tecnica usata per estrarre le caratteristiche principali del segnale è quella del Deep Neural Network (*DNN*). Il vantaggio di utilizzare una *DNN* è che essa estrae autonomamente le caratteristiche, un compito complesso poiché i dati neurali registrati sono tipicamente ad alta dimensionalità e rumorosi.

Le *DNN* comprendono gli algoritmi di Machine Learning. Le Artificial Neural Network (*ANN*) sono un sottoinsieme delle tecniche di Machine Learning. Tra le *ANN*, di particolare rilievo sono le *DNN* che sono costituite da una struttura più complessa, composta da molti livelli. I livelli intermedi sono detti *strati nascosti*.

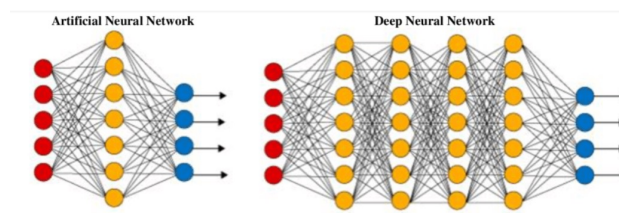


Figura 3.3: Schema semplificato che spiega il Deep Neural Network.

### 3. RIPRISTINO DELLA FUNZIONALITÀ

Il NIS prevede un'interfaccia con un computer/macchina o con il midollo. Questi tipi di interfacce possono essere:

- neuroprotesi assistive
- stimolazione diretta dei muscoli
- stimolazione del midollo spinale

I metodi utilizzati per la reintroduzione del segnale di controllo nel circuito motorio sono la stimolazione epidurale e la microstimolazione intraspinale. Nel primo gli elettrodi per la stimolazione sono impiantati nello spazio epidurale del midollo spinale, mentre nel secondo sono impiantati direttamente nella parte ventrale della materia grigia.

Gli studi sugli elettrodi impiantati nello spazio epidurale hanno riportato riscontri positivi. Un esempio è l'impianto di un array di 16 elettrodi in un paziente con lesione motoria completa[10]. Gli elettrodi sono stati posizionati negli hotspots dell'estensore e un generatore di impulsi è stato utilizzato per controllare i parametri di stimolazione. Poi vari set di parametri di stimolazione vengono inviati al generatore di impulsi per studiare la risposta del paziente allo stimolo.



La microstimolazione intraspinale è un metodo di stimolazione che fornisce un reclutamento più naturale delle unità motorie e riduce il numero di elettrodi e i controlli necessari rispetto alla stimolazione epidurale. Tuttavia, esiste un rischio maggiore di danno ai tessuti a causa dell'impianto degli elettrodi nel tessuto spinale. Gli elettrodi impiantati generano tessuto cicatriziale, e la stabilità e sicurezza a lungo termine di questi elettrodi rimane uno dei principali ostacoli.

Con le tecniche attuali di stimolazione elettrica, sia nella stimolazione epidurale che nella micro-stimolazione intra-spinale, è difficile attivare in modo specifico le cellule del circuito motorio del midollo spinale a causa delle interferenze con popolazioni di neuroni non bersaglio. A questo proposito, l'optogenetica<sup>4</sup> potrebbe essere una soluzione. Le sfide riguardano la ricerca di metodi di codifica per i comandi motori registrati dal cervello in modo da trasmettere segnali significativi al midollo spinale e lo sviluppo di tecniche adeguate per la somministrazione della luce nel midollo spinale. La prima sfida richiede di identificare i contributi delle diverse popolazioni neuronali nel controllo motorio. Per quanto riguarda la seconda, la ricerca attuale si concentra su sistemi wireless alimentati a radiofrequenza, poiché l'impiego di fibre ottiche nel midollo spinale non è fattibile. Questo è diverso dal caso del cervello, poiché far penetrare una fibra ottica nel midollo spinale richiederebbe la recisione dei tratti di materia bianca, che trasportano una densa quantità di informazioni e hanno una ridondanza minima; di conseguenza, un danno locale potrebbe avere conseguenze globali. Un altro approccio potrebbe essere la progettazione di un sistema di stimolazione optogenetica alimentato a ultrasuoni che potrebbe raggiungere strati più profondi del midollo spinale per essere impiegato nel midollo stesso.

### 3.1.1 Brain Computer Interface (BCI)

Le brain computer interface (interfaccia Cervello-Computer) sono un tipo particolare di NIS. La differenza sta nel fatto che le Deep Neural Network si concentrano sull'uso diretto dell'attività cerebrale per controllare dispositivi esterni, mentre i

---

<sup>4</sup>Tecnica che combina l'uso di luce e genetica per controllare e manipolare in modo preciso l'attività delle cellule, tipicamente i neuroni, nei tessuti viventi.

NIS si basano sulla stimolazione e il controllo di muscoli e nervi per ripristinare o migliorare la funzione motoria.

Queste tecnologie sono particolarmente utili nel contesto delle lesioni al midollo spinale, dove possono ripristinare funzioni motorie compromesse, come il movimento degli arti [3]. Le BCI funzionano decodificando i segnali cerebrali e utilizzandoli per controllare dispositivi protesici o sistemi di stimolazione elettrica.

Un'interfaccia cervello-computer consente di controllare dispositivi meccanici o elettronici attraverso un canale di comunicazione che non si basa sui muscoli o sui nervi periferici. Questo canale si basa sull'identificazione di variazioni nell'attività cerebrale, che possono essere registrate tramite strumenti come l'elettroencefalografo. Il computer analizza questi segnali cerebrali, estraendo parametri significativi sia nel dominio del tempo che in quello delle frequenze. Questi parametri vengono poi utilizzati per riconoscere l'intenzione del soggetto e quindi guidare un dispositivo in modo adeguato all'intenzione.

Le BCI non invasive si basano sull'analisi in tempo reale dei dati EEG, misurati tramite elettrodi che rilevano la distribuzione del potenziale elettrico generato dall'attività sincrona dei neuroni della corteccia cerebrale. Questo potenziale può essere rilevato sullo scalpo e viene analizzato dal computer per rilevare le intenzioni motorie del soggetto.

Due segnali importanti per le BCI sono i potenziali evocati e la desincronizzazione del ritmo alfa:

- i potenziali evocati sono deflessioni del potenziale cerebrale in risposta a uno stimolo esterno. Questi possono variare se il soggetto presta attenzione allo stimolo o meno, e sono utilizzati per comunicare l'intenzione
- la desincronizzazione del ritmo alfa si verifica quando il soggetto immagina un movimento. Anche senza eseguire fisicamente l'azione, è possibile ridurre l'ampiezza del ritmo alfa, permettendo un controllo volontario dell'attività cerebrale

Attraverso un periodo di addestramento, il soggetto impara a modificare volontariamente alcuni aspetti del proprio EEG. Ad esempio, può imparare a desincronizzare il proprio ritmo alfa semplicemente immaginando un movimento motorio,

senza effettuarlo realmente. Questi cambiamenti nell'attività cerebrale, se riconosciuti dal sistema BCI, possono essere utilizzati per comunicare o controllare dispositivi esterni.

Un altro segnale utilizzato è l'onda P300, che si manifesta circa 300 ms dopo che uno stimolo di interesse è stato presentato al soggetto. Il sistema BCI può utilizzare questo segnale per riconoscere quale oggetto o comando il soggetto sta osservando, facilitando la comunicazione o il controllo del dispositivo.

Una delle principali sfide nell'implementazione delle BCI è il riconoscimento accurato delle modificazioni volontarie dell'EEG. Poiché il segnale EEG può essere debole e distorto dalle strutture anatomiche come il cranio e lo scalpo, l'estrazione di informazioni precise richiede tecniche sofisticate di elaborazione del segnale. Inoltre, è fondamentale addestrare l'utente a controllare specifiche caratteristiche dell'EEG per ridurre gli errori e migliorare l'efficacia della BCI.

Esistono numerosi studi sulle BCI. Uno di questi ha come obiettivo quello di mettere in comunicazione la corteccia e il midollo usando segnali elettrocorticografici, in tempo reale e senza l'uso di fili. [14]

Per monitorare i segnali elettrocorticografici viene utilizzata una griglia 8x8 con 64 elettrodi e componenti elettronici di registrazione che sono incastonati in un supporto circolare di titanio con uno spessore pari a quello del cranio. Sono poi presenti due antenne esterne che sono incorporate in un auricolare personalizzato che garantisce un accoppiamento affidabile.

La prima antenna alimenta l'elettronica impiantata tramite accoppiamento induttivo, mentre la seconda antenna a frequenza ultra-alta trasferisce i segnali ECoG in tempo reale a una stazione base portatile e a un'unità di elaborazione, che genera previsioni online delle intenzioni motorie sulla base di questi segnali. Vedi Figura 3.4.

Le intenzioni motorie decodificate vengono quindi convertite in comandi di stimolazione che vengono trasferiti a un software personalizzato in esecuzione sulla stessa unità di elaborazione.

Questi comandi vengono inviati al generatore di impulsi impiantabile. Le correnti elettriche vengono quindi inviate alle zone di ingresso delle radici dorsali target.

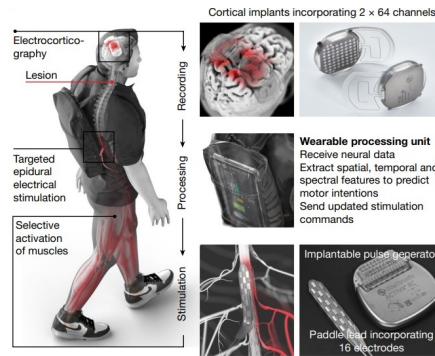


Figura 3.4: Rappresentazione del dispositivo e dei suoi componenti.

Per identificare le regioni corticali più reattive al tentativo di muovere ciascuna articolazione degli arti inferiori, sono stati acquisiti i dati di imaging anatomico e funzionale basati su tomografia computerizzata e magnetoencefalografia. Un esempio è mostrato in Figura 3.5.

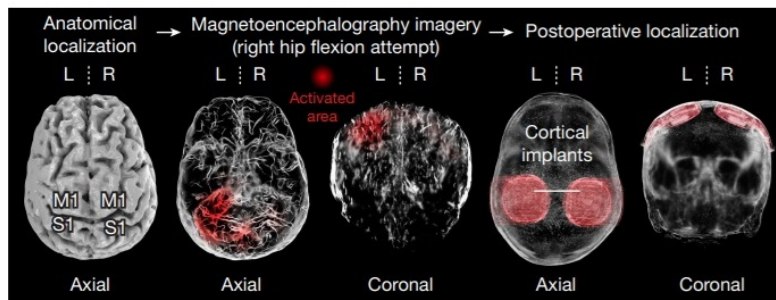


Figura 3.5: Immagini relative alla pianificazione pre-operatoria delle posizioni degli impianti corticali e poi post-operatoria che documentano l'esito dell'intervento chirurgico.

Queste acquisizioni hanno identificato le regioni della corteccia cerebrale che rispondevano in modo più robusto all'intenzione di muovere gli arti inferiori sinistro e destro. Sono state integrate queste informazioni con vincoli anatomici per definire il posizionamento ottimale dei due impianti di registrazione ECoG, destinati a decodificare i movimenti degli arti inferiori sinistro e destro. La posizione di entrambi gli impianti è stata caricata su un sistema di neuronavigazione per stabilire la pianificazione preoperatoria dell'intervento neurochirurgico.

Un passaggio fondamentale è quello della calibrazione che richiede due procedure indipendenti per selezionare le caratteristiche delle registrazioni ECoG che discriminano l'intenzione di movimento e per configurare i programmi di stimolazione che modulano specifici gruppi di muscoli degli arti inferiori. Ai partecipanti

è stato chiesto di provare a fare specifici movimenti e in questo modo sono state acquisite informazioni che hanno permesso di realizzare una mappatura in grado di determinare le caratteristiche spettrali e le finestre temporali che catturavano la maggiore quantità di informazioni correlate al movimento.

La seconda procedura consiste nel configurare i programmi di stimolazione. La stimolazione elettrica epidurale del midollo spinale può modulare specifici gruppi di motoneuroni attraverso il reclutamento delle zone di ingresso delle radici dorsali che proiettano nelle regioni del midollo spinale in cui risiedono questi gruppi motoneuronali. A loro volta, configurazioni ottimizzate di anodi e catodi possono indirizzare i campi elettrici verso specifici sottoinsiemi delle zone di ingresso delle radici dorsali per modulare gruppi definiti di motoneuroni. Questo principio fisiologico permette la regolazione dei movimenti di estensione e flessione di ciascuna articolazione. È stato sfruttato questo principio per configurare una libreria di programmi di stimolazione elettrica epidurale mirata, che mobilitano le articolazioni di anca, ginocchio e caviglia su entrambi i lati.

Per il recupero del cammino bisogna seguire sequenze ben definite di schemi di attivazione muscolare, come la propulsione e lo slancio degli arti inferiori sinistro e destro. Queste sequenze coincidono con l'attivazione di gruppi motoneuronali situati in aree ben segregate del midollo spinale lombosacrale. Pertanto sono stati selezionati i programmi di stimolazione all'interno della libreria che miravano ai muscoli associati alla propulsione e alla funzione di slancio, collegando questi programmi alle probabilità di decodifica.

I punti critici riscontrati sono stati:

- i parametri di stimolazione devono essere finemente regolati in base al muscolo target o alla funzione motoria desiderata
- l'inizio della stimolazione deve essere sincronizzato con precisione con l'intenzione motoria
- un controllo fine e graduale sull'attività muscolare richiede la modulazione dell'ampiezza della stimolazione

Un altro studio si è concentrato su un campione costituito da un gruppo di macachi [8]. Per supportare lo sviluppo dell'interfaccia cervello-midollo spinale, è stata

realizzata una piattaforma wireless di registrazione e stimolazione delle scimmie libere, non vincolate e non collegate a cavi. Nei macachi sono stati impiantati dei microelettrodi nella zona della corteccia motoria per registrare l'attività di scarica di gruppi di neuroni. I segnali elettromiografici sono stati monitorati utilizzando elettrodi bipolari impiantati nei muscoli antagonisti che attraversano ogni articolazione della zampa destra. Moduli wireless hanno permesso la trasmissione di segnali neurali ed elettromiografici a ricevitori esterni. Per fornire la stimolazione elettrica epidurale è stata utilizzata una tecnologia precedentemente sviluppata nei ratti, che è stata adattata alle scimmie. Questi impianti spinali sono stati inseriti nello spazio epidurale sopra i segmenti lombari e collegati a un generatore di impulsi impiantabile comunemente usato per la terapia di stimolazione cerebrale profonda. È stato progettato un modulo di comunicazione wireless che consente il controllo dei parametri spaziali e temporali.

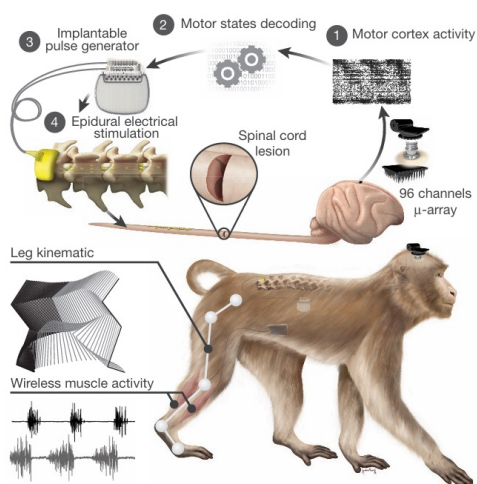


Figura 3.6: Immagine schematica del funzionamento dell'interfaccia cervello-midollo spinale.

È stata effettuata una mappatura della distribuzione spaziale dei motoneuroni che innervano i muscoli antagonisti, come estensori e flessori. Le mappe spazio-temporali di attivazione dei motoneuroni hanno mostrato che durante la locomozione, i motoneuroni in specifiche regioni del midollo spinale si attivano in sequenza, con hotspot di estensione e flessione distinti.

Per accedere agli hotspot dei motoneuroni identificati, è stata usata la stimolazione delle radici dorsali proiettanti nei segmenti spinali coinvolti. Questo ha permesso di attivare specificamente i motoneuroni per modulare i movimenti durante

la locomozione.

Utilizzando l'attività neurale della corteccia motoria, è stato sviluppato un sistema che decodifica i segnali relativi ai movimenti delle zampe e sincronizza l'attivazione degli hotspot spinali con le fasi della locomozione (contatto e distacco del piede). Valutazioni su scimmie intatte hanno dimostrato che questo decodificatore è in grado di anticipare accuratamente gli eventi di deambulazione in tempo reale.

La piattaforma wireless è stata utilizzata per creare un collegamento diretto tra l'attività cerebrale e la stimolazione spinale.

In scimmie con lesioni al tratto corticospinale, l'interfaccia cervello-midollo spinale ha permesso un recupero significativo della locomozione, sia su tapis roulant che su terreno solido, migliorando la quantità e qualità dei passi della zampa lesionata. Durante il processo di recupero, la precisione della decodifica dei segnali motori è aumentata, segno che la corteccia motoria si è riorganizzata.

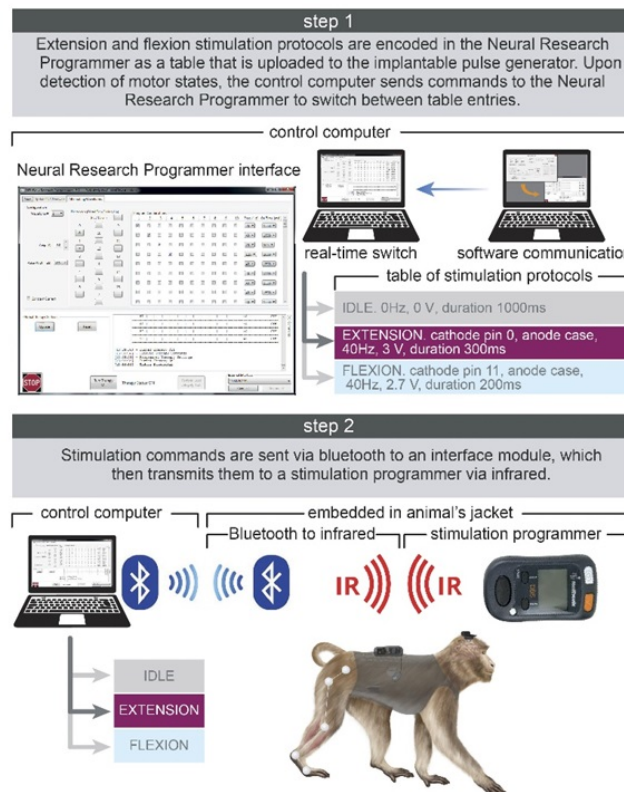


Figura 3.7: Step 1: i protocolli sono codificati nel Neural Research Programmer e vengono caricati nel generatore di impulsi impiantabile; step 2: i comandi di stimolazione vengono inviati via Bluetooth a un modulo d'interfaccia, che li trasmette a un programmatore di stimolazione tramite infrarossi.

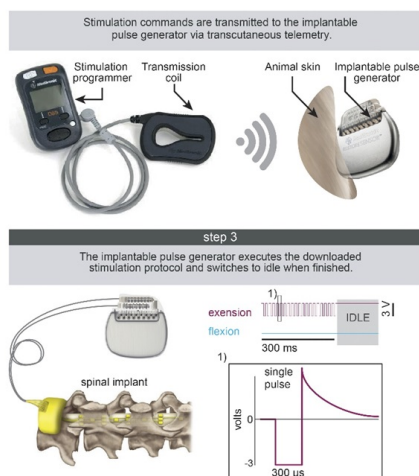


Figura 3.8: Step 3: il generatore di impulsi impiantabile esegue il protocollo di stimolazione scaricato e passa allo stato inattivo quando ha terminato.

### 3.1.2 Enhanced Feedback Neural Interface System (EF-NIS)

Un aspetto fondamentale nell'utilizzo del NIS è il feedback somatosensoriale. [9] L'utilizzo del feedback propriocettivo o di un feedback derivante dalle caratteristiche spazio temporali degli arti in un NIS può aiutare i pazienti a compiere movimenti più naturali e a percepire gli arti stimolati o le neuroprotesi.

Il NIS con feedback migliorato (EF-NIS Enhanced Feedback) utilizza segnali neurali registrati dal cervello e stimola il midollo spinale per ripristinare le funzioni motorie. Lo schema di funzionamento viene mostrato in Figura 3.9.

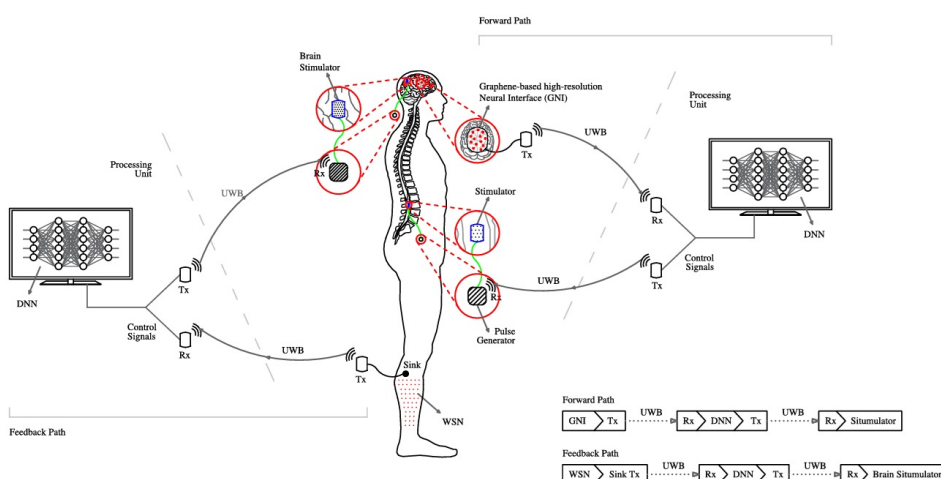


Figura 3.9: Struttura dell'Enhanced Feedback NIS.



I componenti dell'EF-NIS sono:

- dispositivo di registrazione e interfaccia di comunicazione

I dispositivi a base di grafene sono ampiamente studiati per le interfacce neurali, grazie alla capacità del grafene di favorire la crescita del tessuto nervoso senza influenzare il comportamento dei neuroni coinvolti. Inoltre, il grafene è flessibile e trasparente, qualità che lo rendono particolarmente adatto per tecniche di imaging. Un altro vantaggio del grafene è la sua capacità di ridurre il SINR (Signal-to-Interference-plus-Noise Ratio).

Esistono due tipologie principali di dispositivi a base di grafene: i Micro-Array di Elettrodi (MEAs) e i Transistor a Effetto di Campo (GFETs). I MEAs, caratterizzati da array estremamente densi con elettrodi di piccole dimensioni, presentano tuttavia lo svantaggio di non offrire amplificazione del segnale in loco, rendendo il sistema più suscettibile al rumore di collegamento e richiedendo una complessa post-elaborazione dei dati. Al contrario, i GFETs forniscono un'amplificazione del segnale direttamente nel punto di rilevamento, garantendo un SINR elevato. Inoltre, la loro superficie può essere funzionalizzata per rilevare neurotrasmettitori biochimici. Se si scelgono molecole recettoriali adatte, è possibile simulare tempi di decadimento realistici del potenziale di membrana postsinaptico, favorendo l'implementazione della sommazione temporale e spaziale del potenziale stesso.

Di conseguenza, le interfacce neurali ad alta risoluzione basate sul grafene (Graphene Neural Interface, GNI) rappresentano una valida opzione per la registrazione delle attività cerebrali, come quelle della corteccia motoria primaria.

La larghezza di banda richiesta per la trasmissione wireless tra l'impianto cerebrale e l'unità di elaborazione esterna dipende dal numero di canali di registrazione utilizzati. Per ottenere una stima accurata dei comandi cerebrali, è necessario disporre di una densa distribuzione di siti di registrazione, che richiedono alti tassi di dati, dell'ordine di Mbps. Tuttavia, il trasmettitore deve operare con un basso consumo energetico, poiché anche un aumento minimo di 1°C potrebbe danneggiare i tessuti neurali.

Considerando queste esigenze, i sistemi a banda ultra larga (Ultra-Wideband, UWB: 3,1-10,6 GHz) sono la soluzione ideale, poiché offrono elevati tassi di trasmissione dati mantenendo una dissipazione di potenza entro i limiti accettabili e utilizzano una superficie del chip minima. Di conseguenza, l'interfaccia di comunicazione tra l'impianto cerebrale e l'unità di elaborazione EF-NIS prevede l'uso di un semplice trasmettitore UWB nell'impianto e di un ricevitore UWB più complesso nell'unità esterna. Tecniche di compressione efficienti possono inoltre essere impiegate per ridurre la quantità di dati da trasmettere, senza incrementare significativamente la complessità del sistema.

- unità di elaborazione e interfaccia dello stimolatore spinale

L'unità di elaborazione svolge due compiti principali:

- decodificare l'intenzione del soggetto dai segnali neurali
- generare segnali di controllo per la stimolazione del midollo spinale

Per il suo funzionamento, l'unità richiede un trasmettitore wireless che invii i parametri di stimolazione direttamente al punto in cui viene stimolato il midollo spinale. La comunicazione tra l'unità di elaborazione e il dispositivo di stimolazione spinale può avvenire a una velocità inferiore rispetto a quella tra l'impianto cerebrale e l'unità di elaborazione, poiché il volume di dati da trasmettere è ridotto.

Inoltre, il ricevitore nel dispositivo di stimolazione del midollo deve operare con un basso consumo energetico. La trasmissione a banda ultra larga (UWB), caratterizzata da un'efficienza sia in termini di spazio che di consumo energetico, risulta ideale per questo tipo di comunicazione. Un ulteriore vantaggio di questa tecnologia è la capacità di ridurre le interferenze durante la trasmissione dei dati.

I segnali di controllo ricevuti dallo stimolatore del midollo spinale vengono successivamente utilizzati per impostare i parametri di stimolazione. Il sistema GNI è in grado sia di rilevare che di generare variazioni nella concentrazione di specifiche molecole in un'area circoscritta, e verrà quindi utilizzato anche per stimolare in modo altamente preciso le cellule nervose situate nel midollo spinale.

- interfaccia di comunicazione muscolo-cervello

Esistono numerosi sensori indossabili per il monitoraggio dell'attività corporea. Tra questi, i sensori flessibili, simili a tatuaggi sono particolarmente vantaggiosi grazie ai loro design morbidi e ultra sottili. Inoltre, sono generalmente realizzati con materiali biocompatibili, come il grafene e l'oro, come mostrato in Figura 3.10, rendendoli adatti all'uso a lungo termine. Questi sensori sono in grado di registrare diverse modalità sensoriali, come l'attività muscolare e il tatto.

Per quanto riguarda l'interfaccia di comunicazione, possono essere utilizzati approcci wireless, con cavi o ibridi. Nel caso di una densa rete di sensori che registrano più modalità, si possono utilizzare array di sensori cablati, le cui registrazioni vengono raccolte in un nodo centrale dotato di interfaccia wireless per comunicare con l'unità di elaborazione o con l'impianto cerebrale.

Le informazioni sensoriali raccolte vengono poi trasmesse all'unità di elaborazione per generare i parametri necessari alla stimolazione della corteccia somatosensoriale. A tal fine, le aree responsabili della corteccia somatosensoriale per il feedback sensoriale di ciascuna gamba devono essere identificate. Questo può essere fatto raccogliendo attività tattili e muscolari da soggetti sani e registrando le corrispondenti attività nella regione somatosensoriale durante il cammino. Successivamente, una DNN (Deep Neural Network) viene addestrata per stimare l'attività della corteccia somatosensoriale in base alle informazioni sensoriali raccolte. L'EF-NIS utilizza queste informazioni per generare parametri di stimolazione che attivano regioni somatosensoriali simili nei pazienti.

Nel passaggio successivo, l'unità di elaborazione trasmette i parametri di stimolazione all'unità di controllo, che viene chirurgicamente posizionata sopra la pia madre, lo strato più delicato e interno delle meningi che circonda il cervello e il midollo spinale. La trasmissione avviene ancora attraverso l'interfaccia di comunicazione UWB. L'unità di controllo invia i segnali di controllo all'interfaccia neurale ad alta risoluzione a base di grafene, situata sopra la regione somatosensoriale, per stimolare il cervello manipolando i livelli di concentrazione ionica. Un possibile approccio per raggiungere la manipolazione

dei livelli di concentrazione ionica è l'uso di membrane in grafene con pori sub-nanometrici regolabili.

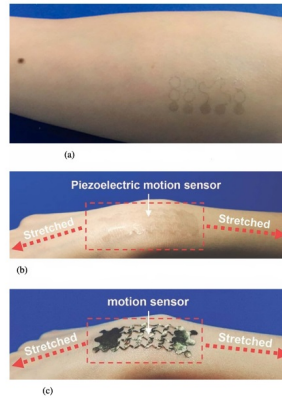


Figura 3.10: a) Sensore a tatuaggio elettronico in grafene; b) sensore di movimento piezoelettrico al grafene; c) sensore di movimento flessibile che utilizza un sottile film di oro.

### 3.1.3 Stentrode

Nonostante i riscontri positivi osservati nell'utilizzo di dispositivi per la stimolazione del midollo, ci sono ancora alcune problematiche che ne limitano l'impianto. Tra queste la durata limitata del corretto funzionamento del sistema, la formazione di cicatrici e la possibilità di infezione. Per questo motivo, l'azienda Synchron ha sviluppato una nuova tecnologia che si pone l'obiettivo di ridurre l'invasività e la difficoltà di inserimento degli elettrodi tradizionali [10]. In sostituzione di questi ultimi è stato realizzato un array di elettrodi montati su uno stent, l'immagine è riportata in Figura 3.11. Questo dispositivo si chiama stentrode che sta per Stent-electrode recording array ed è costituito da una matrice di elettrodi in platino inseriti in uno stent endovascolare in nitinol (una lega di nichel e titanio). L'impianto è in grado di comunicare in entrambe le direzioni, il che significa che può sia percepire i pensieri che stimolare il movimento, agendo essenzialmente come un circuito di feedback all'interno del cervello.

Il vantaggio dello Stentrode è che richiede un intervento molto meno invasivo per essere impiantato. Non è necessario un intervento a cielo aperto, poiché l'inserimento avviene tramite una piccola incisione nella vena giugulare. Da lì, lo stent viene inserito nel vaso sanguigno che porta al cervello, fino a raggiungere la corteccia motoria. Una volta posizionato, lo Stentrode si espande per premere gli elettrodi

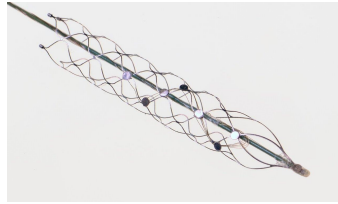


Figura 3.11: Stentrode.

contro la parete del vaso vicino al cervello, dove può registrare informazioni neurali e trasmettere correnti direttamente alle aree target. I segnali vengono catturati e inviati a un'antenna wireless impiantata nel torace, che li trasmette a un ricevitore esterno. Il paziente dovrà imparare a controllare un sistema operativo del computer che interagisce con tecnologie assistive.

I risultati delle sperimentazioni cliniche hanno dimostrato che due pazienti affetti da SLA, a cui era stato chirurgicamente impiantato uno Stentrode, hanno imparato a controllare la scrittura di messaggi e la digitazione attraverso il pensiero diretto, con l'aiuto della tecnologia di eye-tracking per la navigazione del cursore.

La Figura 3.12 mostra i componenti dello sternrode. Il cavo di trasmissione esce dalla vena giugulare e viene collegato all'unità di telemetria interna (ITU) posta in una tasca sottoclaveare. L'unità di telemetria esterna (ETU) alimenta induttivamente l'ITU e riceve il segnale di elettrocorticografia tramite trasmissione a luce infrarossa. Il segnale viene inviato a un tablet tramite un'unità di controllo del segnale e tradotto in comandi a più clic dal decoder personalizzato.

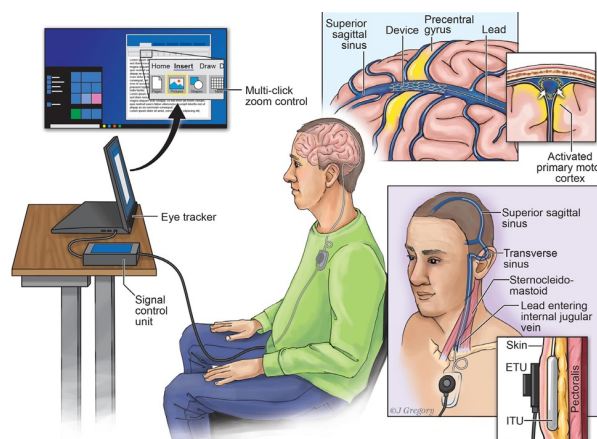


Figura 3.12: Impianto dello stentrode.

## 3.2 Neuroni Artificiali (AN)

La struttura dei neuroni artificiali è mostrata in Figura 3.13

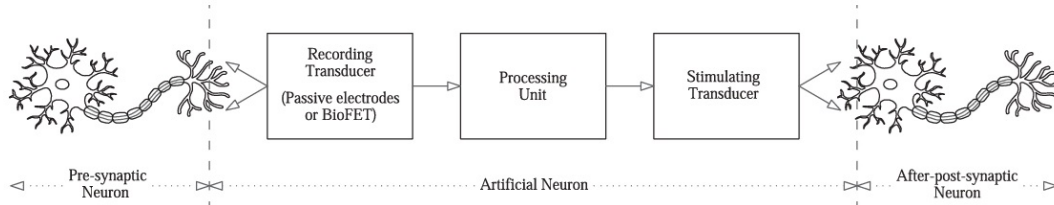


Figura 3.13: Struttura di un neurone artificiale.

Un neurone artificiale esegue azioni di elaborazioni simili a quelle dei neuroni biologici. [9]

Le caratteristiche fondamentali di un neurone artificiale sono:

- plasticità

La plasticità è essenziale in quanto costituisce la base delle funzioni cognitive e di memoria nel sistema nervoso e fornisce la capacità di cambiare la risposta a seconda dello stimolo di input

- biocompatibilità

La biocompatibilità è un fattore essenziale per garantire la stabilità a lungo termine

- dimensioni fisiche

La dimensione dei neuroni artificiali devono integrarsi correttamente a quelli biologici

- requisiti energetici

L'energia può essere ricavata dal calore del corpo o dalla pressione sanguigna, creando gradienti all'interno del corpo. Altre metodologie innovative sfruttano l'energia direttamente dalle fonti energetiche del corpo, come il glucosio

- amplificazione

L'elaborazione degli input biologici può richiedere l'uso di amplificazioni poiché la trasmissione deve essere effettuata su una certa distanza e l'energia tipica dei segnali è dell'ordine di  $\mu\text{J}$ . Tali amplificatori devono avere caratteristiche di basso rumore, basso consumo energetico e alta precisione

Ad oggi però non esistono prototipi di AN che possono sostituire completamente i neuroni biologici. Alcuni studi però hanno approcciato il problema seguendo due strade: i neuroni neuromorfici e biomimetici.

### **NEURONI NEUROMORFICI**

Questo tipo di neurone si basa su circuiti elettronici, che eseguono il calcolo neuromorfico,<sup>5</sup> dove l'integrazione su larga scala (VLSI) di singoli neuroni o sinapsi viene utilizzata in modo simile a quanto avviene nel cervello umano. Il più grande vantaggio dei sistemi neuromorfici è che includono la plasticità come base dei loro modelli. Tuttavia l'implementazione di neuroni artificiali mediante metodi neuromorfici incontra diversi ostacoli, come la grande dimensione, l'elevato consumo energetico e i problemi di interfacciamento. Anche per alcuni dei dispositivi più recenti che utilizzano basso consumo e hanno dimensioni ridotte, rimangono problemi di interfacciamento poiché i sistemi neuromorfici non sono progettati con interfacce neurali.

### **NEURONI BIOMIMETICI**

I circuiti biomimetici imitano i processi biochimici utilizzando materiali sintetici. Poiché la maggior parte della comunicazione tra entità biologiche avviene attraverso lo scambio di molecole e reazioni biochimiche di queste molecole, i circuiti biomimetici sono candidati ideali per l'interfacciamento diretto con sistemi biologici. Vengono impiegati per realizzare applicazioni come muscoli artificiali, membrane intelligenti, trasduttori biologici e interfacce cervello-macchina.

La funzione di base di un neurone viene realizzata mediante biosensori amperometrici a base di enzimi e pompe ioniche organiche in modo biomimetico. Sebbene

---

<sup>5</sup>Sistemi che imitano l'architettura e i meccanismi di elaborazione dei neuroni e delle sinapsi, permettendo ai computer di eseguire compiti in modo più efficiente dal punto di vista energetico rispetto ai computer tradizionali.

questo sistema sia biocompatibile e la rilevazione delle biomolecole venga effettuata su scale simili a quelle dei neuroni biologici, molte delle caratteristiche attese da un neurone artificiale non vengono soddisfatte. Ad esempio, il sistema non presenta plasticità, utilizza dimensioni macroscopiche ed è stato testato in vitro senza alcuna interfaccia con i neuroni biologici.



# Capitolo 4

## Conclusioni

In questo elaborato sono state esplorate diverse tecniche per il trattamento delle lesioni al midollo spinale, con particolare attenzione a due approcci: quello biologico e quello ingegneristico. L'approccio biologico si concentra sull'uso di cellule staminali e scaffold per promuovere la rigenerazione del tessuto nervoso danneggiato, cercando di ripristinare le funzioni perse attraverso la riparazione del midollo stesso. D'altra parte, l'approccio ingegneristico mira a bypassare la zona lesionata creando un ponte artificiale tra cervello e midollo spinale.

Tra le tecnologie ingegneristiche più promettenti vi è il Brain-Computer Interface (BCI), un campo in rapido sviluppo. Le BCI offrono soluzioni non solo per i pazienti con lesioni al midollo spinale, ma anche per i soggetti affetti da patologie neurodegenerative o danni cerebrali che provocano paralisi o deficit motori. Queste interfacce permettono di tradurre l'attività cerebrale in comandi per dispositivi esterni o per la stimolazione diretta di nervi e muscoli, aprendo nuove strade per il recupero della funzionalità motoria. Attraverso le BCI, è possibile ripristinare movimenti e funzioni perdute, migliorando significativamente la qualità della vita di pazienti affetti da gravi disabilità.

Nonostante i progressi, molte sfide rimangono. La rigenerazione del tessuto nervoso richiede ulteriori ricerche. Sono infatti molti gli studi che riportano risultati positivi nell'utilizzo di cellule staminali, ma sono ben pochi quelli che hanno testato e validato la procedura su pazienti umani. D'altra parte la tecnologia delle interfacce cervello-computer ha portato a grandi innovazioni, ma rimangono ancora

alcune sfide. Una di queste riguarda la grande diversità che c'è tra i pazienti. Infatti le prestazioni dei BCI variano molto da persona a persona e anche nello stesso individuo nel tempo, a causa di fattori come attenzione, affaticamento, memoria, stress, età e stile di vita. Un altro aspetto molto discusso è il metodo con cui si estraggono i segnali neurali. Bisogna decidere se è meglio avere segnali con bassa risoluzione spaziale ma non invasivi o viceversa. Un altro aspetto da tenere in considerazione è quello economico. Attualmente i costi necessari per ricorrere ad un BCI non permettono di far sì che questa tecnologia sia accessibile a tutti. Per ultimo, un problema che sarà sicuramente sempre più dibattuto con il miglioramento nelle tecnologie di BCI è quello della privacy e sicurezza. Le BCI raccolgono informazioni intime sull'attività cerebrale dell'utente, sollevando preoccupazioni legate alla privacy e alla protezione dei dati, ma soprattutto alla possibilità di manipolare i pensieri dell'utente. L'integrazione tra approcci biologici e tecnologici rappresenta una via promettente per lo sviluppo di trattamenti avanzati, che possono offrire nuove speranze ai pazienti colpiti da lesioni spinali e altre condizioni neurologiche debilitanti.

# Bibliografia

- [1] Fondazione giorgio brunelli, ricerca sulle lesioni del midollo spinale.
- [2] Prospettive internazionali sulla lesione del midollo spinale.
- [3] Fabio Babiloni. Interfacce cervello-computer. *Dizionario di Medicina*, 2010.
- [4] A. Faccendini et al. Nanofiber scaffolds as drug delivery systems to bridge spinal cord injury. *Pharmaceuticals*, vol. 10:no. 3, 2017.
- [5] B. Chen et al. Repair of spinal cord injury by implantation of bfgf incorporated hema-moetacl hydrogel in rats. *Sci. Rep. (Nat. Pub lisher Group)*, vol. 28, no. 14, pp. 3814–3823:vol. 5, 2015, Art. no. 9017.
- [6] J. Sharp et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants improve recovery after cervical spinal cord injury. *Stem Cells*, vol. 5:vol. 28, no. 1, pp. 152–163, 2010.
- [7] J. Y. Tyler et al. Nanomedicine for treating spinal cord injury. *Nanoscale*, vol. 5:no. 19, pp. 8821–8836, 2013.
- [8] M. Capogrosso et al. A brain-spine interface alleviating gait deficits after spinal cord injury in primates. *Nature*, vol. 539, no. 7628:284–288, 2016.
- [9] Ozgur B. Akan et al. Information and communication theoretical understanding and treatment of spinal cord injuries: State-of-the-art and research challenges.
- [10] Thomas J Oxley et al. Motor neuroprosthesis implanted with neurointerventional surgery improves capacity for activities of daily living tasks in severe paralysis: first in- human experience. *New devices and technologies*, 2020.
- [11] V.M.Tysseling-Mattiace et al. V.M.Tysseling-Mattiace et al. Self-assembling nanofibers inhibit glial scar formation and promote axon elongation after spinal cord injury. *J. Neurosci.*, vol. 28, no. 14, pp. 3814–3823:vol. 28, no. 1, pp. 152–163, 2008.

- [12] J.P. Wyatt. *Oxford Handbook of emergency medicine*.
- [13] Y.Guoetal. Encoding of forelimb forces by corticospinal tract activity in the rat. *Front. Neurosci.*, vol. 8:Art. no. 62, 2014.
- [14] Y.Guoetal. Walking naturally after spinal cord injury using a brain–spine interface. *Front. Neurosci.*, vol. 8:Art. no. 62, 2014.