

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA**  
**SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE**



Tesi di Laurea in Medicina e Chirurgia

**Il ruolo del danno cerebellare  
nella sclerosi multipla: uno studio di  
risonanza magnetica multimodale a 3 Tesla**

*Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia,  
Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI)*

**Relatrice:**

Prof.ssa MATILDE INGLESE

**Correlatore:**

Dott. GIACOMO BOFFA

**Candidata:**

SARA CARPANETO

Anno accademico 2019/2020

# INDICE

---

<b>INTRODUZIONE .....</b>	<b>3</b>
La sclerosi multipla: introduzione generale .....	3
Anatomia macroscopica del cervelletto .....	6
Anatomia microscopica del cervelletto.....	7
Fisiologia del cervelletto.....	9
Il cervelletto nella sclerosi multipla.....	10
L'EDSS e i suoi limiti.....	11
Il test dell'equilibrio statico dell'NIH toolbox .....	13
Risonanza magnetica e cervelletto dei pazienti con SM.....	14
SUITer: Spatially unbiased infratentorial for enhanced resolution.....	15
Studi precedenti a confronto .....	16
<b>SCOPO DELLO STUDIO .....</b>	<b>22</b>
<b>METODI .....</b>	<b>23</b>
1. Criteri di inclusione .....	23
2. Valutazione clinica .....	25
3. Valutazione radiologica .....	26
<b>RISULTATI .....</b>	<b>28</b>
1. Correlazione tra NIH Standing Balance Test e marker di risonanza magnetica... 28	
2. Correlazione tra specifici lobuli cerebellari e disturbi dell'equilibrio .....	28
<b>DISCUSSIONE.....</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONI .....</b>	<b>30</b>
<b>FIGURE.....</b>	<b>31</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>40</b>
<b>RINGRAZIAMENTI .....</b>	<b>44</b>

# INTRODUZIONE

---

## La sclerosi multipla: introduzione generale

---

La sclerosi multipla (SM) è la malattia infiammatoria/demielinizzante cronica più frequente del Sistema Nervoso Centrale (SNC), ne sono affette più di due milioni di persone in tutto il mondo (1). In Italia la malattia colpisce più di 122.000 persone (quindi una persona su 500) e si stimano più di 3400 nuovi casi all'anno (5-6 nuovi casi ogni 100.000 abitanti all'anno) (2).

La sclerosi multipla è caratterizzata da episodi di disabilità neurologica completamente o parzialmente reversibili, che solitamente durano alcuni giorni o settimane. Nella maggior parte dei casi (85-90% dei pazienti), la malattia ha un fenotipo clinico "a ricadute e remissioni" (SMRR), ovvero è caratterizzata da ricadute con una disabilità neurologica stabile tra gli episodi. Tipicamente, dopo 10-20 anni di malattia, in molte delle persone affette si sviluppa un decorso progressivo, che porta infine alla compromissione delle capacità motorie e a disturbi cognitivi (SMSP= sclerosi multipla secondariamente progressiva): questo si stima che avvenga nel 15-30% delle persone affette. Circa il 15% dei pazienti, inoltre, ha un decorso progressivo dall'inizio (SMPP= sclerosi multipla primariamente progressiva). Esistono anche altri due possibili quadri di malattia all'esordio, conosciuti come CIS (clinically isolated syndrome) e RIS (radiologically isolated syndrome): si parla di CIS per indicare una sindrome clinicamente isolata, riconosciuta come prima presentazione clinica della malattia, che però non soddisfa ancora tutti i criteri diagnostici per essere definita tale, mentre con il termine RIS si intende una sindrome radiologicamente isolata, in cui nelle neuroimmagini si riscontrano reperti accidentali di lesioni infiammatorie demielinizzanti suggestive di SM in assenza di sintomi e segni clinici (1,3,4).

Per ragioni non note, tre quarti dei pazienti con sclerosi multipla sono di sesso femminile, aspetto comune ad altre patologie autoimmuni. La SM è una malattia che colpisce i giovani: l'età media di esordio nei pazienti con SMRR è 30 anni, mentre la forma primariamente progressiva tipicamente si presenta più tardi (età media all'esordio 40 anni) (5).

L'eziologia precisa è ancora sconosciuta, ma sono stati trovati alcuni fattori di rischio genetici e ambientali. Il più significativo fattore genetico è l'aplotipo HLA DRB1\*1501 (odds ratio circa 3).

I fattori ambientali principali che hanno un ruolo nello sviluppo della SM sono il deficit di vitamina D (collegata a ridotta esposizione alla luce solare e diminuita produzione naturale in gruppi etnici con pelle scura), la dieta, l'obesità nella prima infanzia, il fumo di sigaretta e alcune infezioni che potrebbero innescare meccanismi di autoimmunità (per es. virus di Epstein-Barr, rischio relativo 3,0); inoltre, potrebbe avere un ruolo anche il microbioma intestinale (3).

Dal punto di vista patogenetico il danno tissutale nella sclerosi multipla è dato da una complessa e dinamica interazione tra il sistema immunitario, le cellule gliali e neuronali. Sia l'immunità innata sia quella adattativa, con le loro cellule effettrici (microglia, macrofagi attivati, linfociti B e T) sono note influire nella patogenesi della SM. Sia linfociti T CD4+ sia CD8+ sono stati descritti nelle lesioni da SM: i CD4+ sono più concentrati in sede perivascolare, mentre i CD8+ sono distribuiti nel parenchima. I farmaci che limitano l'accesso delle cellule T nel sistema nervoso centrale possono ridurre o eliminare nuove lesioni da SM. Inoltre, la scoperta dell'importanza delle cellule B nella malattia ha portato a nuovi target di terapia, con anticorpi monoclonali anti-B, che hanno avuto grande successo nel limitare la formazione di lesioni e nel ridurre l'attività clinica di malattia. Per quanto riguarda la microglia, non è ancora chiaro se il suo ruolo sia patogenetico o protettivo. Inoltre, le alterazioni della barriera ematoencefalica hanno un ruolo critico nello sviluppo delle lesioni della sostanza bianca, nelle quali si può vedere, in fase precoce, lo stravasamento di gadolinio in risonanza magnetica (1,3).

Il più importante strumento diagnostico e prognostico per valutare la sclerosi multipla è la risonanza magnetica, soprattutto nella fase precoce di malattia. Questa tecnica di imaging permette di valutare sia le caratteristiche lesioni iperintense in sequenze T2-pesate (T2, T2-FLAIR), fondamentali per la diagnosi e per valutare l'attività di malattia nel tempo, sia di monitorare l'atrofia cerebrale, indicativa di deterioramento cerebrale progressivo. Le tipiche lesioni della sostanza bianca della SM hanno forma circolare/ovoidale e hanno dimensioni comprese tra pochi millimetri a più di due o tre centimetri di diametro. Hanno soprattutto sede periventricolare (incluso il corpo calloso), iuxtacorticale (confinanti con la corteccia cerebrale) e nelle regioni infratentoriali. Inoltre, lesioni del midollo spinale sono

presenti nell'80-90% dei pazienti con definita SM e in più di metà dei pazienti con CIS, più frequentemente nel midollo cervicale. Tali lesioni possono mostrare un corrispettivo ipointenso in sequenze T1-pesate quando vi sia conclamata perdita assonale (i cosiddetti "black holes"), vedi Figura 1 (5–7). La risonanza magnetica è un esame diagnostico chiave quando si presenta un paziente con una sindrome clinica suggestiva di SM e i più recenti criteri (Thompson et al., 2018 (8)) consentono una diagnosi accurata con una singola risonanza. Questa tecnica strumentale è importante anche nello sviluppo di nuove terapie modificanti la malattia (disease-modifying therapies), perché le nuove lesioni all'imaging sono molto più frequenti delle ricadute cliniche. Inoltre, l'effetto della terapia sulla formazione di nuove lesioni in risonanza magnetica predice fortemente l'effetto della stessa terapia sul tasso di ricadute cliniche, come dimostrato da numerosi trial clinici.

Più di una dozzina di farmaci modificanti la malattia sono disponibili per ridurre la frequenza degli episodi transitori di disabilità neurologica e per limitare l'accumulo di lesioni focali di sostanza bianca in risonanza magnetica. Nessuna terapia, però, previene completamente il progressivo deterioramento neurologico, caratterizzato da disturbi della deambulazione, perdita di controllo sfinterico vescicale e peggioramento delle capacità cognitive (1).

La presentazione tipica all'esordio della SM può consistere nella perdita monoculare della vista dovuta a una neurite ottica, nella diminuzione della forza muscolare o perdita di sensibilità a un arto dovuta a una mielite trasversa, nella diplopia dovuta a lesioni del tronco encefalico o in atassia dovuta a coinvolgimento cerebellare (1).

<b>Sintomo</b>	<b>Percentuale di casi</b>	<b>Sintomo</b>	<b>Percentuale di casi</b>
Perdita di sensibilità	37	Segno di Lhermitte	3
Neurite ottica	36	Dolore	3
Debolezza	35	Demenza	2
Parestesie	24	Perdita della vista	2
Diplopia	15	Paralisi facciale	1
Atassia	11	Impotenza	1
Vertigine	6	Miochimia	1
Attacchi parossistici	4	Epilessia	1
Sintomi vescicali	4	Cadute	1

Tabella 1: sintomi iniziali di SM (9) (10)

I sintomi cerebellari (atassia cerebellare) costituiscono l'11% dei sintomi all'esordio (9) e sono molto frequenti nel corso della malattia (sono la manifestazione clinica prevalente

nell'11–33% dei pazienti con SM) e, nonostante le alterazioni cerebellari siano conosciute da lungo tempo nella SM, il cervelletto ha ricevuto maggiore attenzione da parte dei ricercatori solo negli ultimi vent'anni (11). Il cervelletto è la struttura cerebrale primariamente coinvolta in compiti di fine coordinazione motoria. I sintomi cerebellari nella SM sono difficili da trattare e correlati a una prognosi di severa disabilità neurologica. Si è visto che i pazienti che dimostrano disfunzione cerebellare in una fase precoce di malattia tendono a sviluppare disabilità più velocemente (12). Le lesioni cerebellari della SM, quindi, hanno un significato prognostico importante e, grazie a programmi di segmentazione dei lobuli cerebellari sempre più precisi e sofisticati, si riescono a studiare meticolosamente tramite imaging. Mentre la risonanza magnetica convenzionale è ampiamente usata per la valutazione della morfologia cerebrale e cerebellare, tecniche avanzate di risonanza magnetica permettono di investigare la microstruttura cerebellare e le caratteristiche funzionali (13).

## **Anatomia macroscopica del cervelletto**

Il cervelletto, sebbene costituisca soltanto il 10% della massa cerebrale totale, con i suoi 69 miliardi di neuroni, contiene più della metà dei neuroni cerebrali.

	Cervello umano
<b>Massa cerebrale totale</b>	<b>1508 g</b>
<b>N° totale dei neuroni del cervello umano</b>	<b>86 miliardi</b>
<b>Numero totale delle cellule non neuronali nel cervello</b>	<b>85 miliardi</b>
Massa della corteccia cerebrale	1233 g
N° dei neuroni della corteccia cerebrale	16 miliardi (19% dei neuroni cerebrali)
Dimensione relativa della corteccia cerebrale	82% della massa cerebrale
<b>Massa del cervelletto</b>	<b>154 g</b>
<b>N° dei neuroni del cervelletto</b>	<b>69 miliardi</b> <b>(80% dei neuroni cerebrali)</b>
<b>Dimensione relativa del cervelletto</b>	<b>10% della massa cerebrale</b>

Tabella 2 (14)

Il cervelletto occupa la maggior parte della fossa cranica posteriore, vedi Figura 2. La superficie del cervelletto è caratterizzata da una caratteristica struttura a ripiegamenti stretti della sostanza grigia corticale paralleli fra loro, detti *folia*, vedi Figura 3.

Da un punto di vista macroscopico, due profonde fessure trasversali lo dividono in tre lobi: la fessura primaria separa il lobo anteriore da quello posteriore (che insieme compongono il corpo del cervelletto), mentre la fessura posterolaterale separa il corpo del cervelletto dal più piccolo lobo flocculo nodulare (15).

Oltre a questi tre lobi principali, il cervelletto può essere ulteriormente suddiviso in lobuli, demarcati da fessure secondarie. Larsell, con una recente revisione di Schmahmann e colleghi, ha creato e standardizzato una nomenclatura sistematica dei lobuli cerebellari (con la numerazione romana da I a X), che è applicata nella maggior parte degli studi di imaging con risonanza magnetica che usano le tecniche di segmentazione cerebellare (11,16,17).

Secondo la classificazione di Schmahmann, che revisiona quella di Larsell, i lobuli cerebellari sono: I, II (indistinguibili, poggiano sul velo midollare e vengono denominati lingula), III (centrale), IV (culmen), V (culmen), VI (declive), Crus I, Crus II, VIIA (folium/tuber), VIIB (aspetto caudale del tuber), VIIIA (piramide), VIIB (piramide), IX (uvula), X (nodulo), separati dalle scissure riassunte in Figura 4, Figura 5 e Figura 6. I lobuli anteriori, secondo questa classificazione sono quelli dall'I al V, mentre i lobuli dal VI al X sono i posteriori (Figura 7). Il lobulo X corrisponde al cosiddetto lobo flocculo-nodulare (nella vecchia terminologia il nodulo era la porzione vermiana, mentre il flocculo la regione emisferica). È invece più difficile segmentare con la risonanza magnetica i nuclei profondi cerebellari in assenza di confini precisi visibili con tale tecnica di imaging (17).

## **Anatomia microscopica del cervelletto**

---

Il cervelletto è costituito da un mantello esterno di sostanza grigia (la corteccia cerebellare), da sostanza bianca all'interno e da tre paia di nuclei profondi di sostanza grigia, che in senso medio-laterale sono: il nucleo del fastigio (o del tetto), il nucleo interposito (a sua volta composto da due nuclei, il globoso e l'emboliforme) e il nucleo dentato (15).

La corteccia cerebellare è costituita da tre strati, che, partendo dalla superficie, sono: strato molecolare, strato delle cellule di Purkinje e strato dei granuli (Figura 8). Le cellule di Purkinje sono i principali neuroni efferenti della corteccia cerebellare: hanno gli alberi dendritici nello strato molecolare (organizzati in piani paralleli adiacenti), i corpi cellulari nello strato di Purkinje e gli assoni nello strato granulare e nella sostanza bianca profonda, dove esercitano funzione inibitoria sui nuclei profondi di sostanza grigia cerebellari. Le afferenze cerebellari, invece, sono eccitatorie e sono costituite principalmente dalle fibre rampicanti (dai nuclei olivari inferiori) e dalle fibre muscoidi (tutti gli altri input). Le fibre rampicanti si avvolgono attorno all'albero dendritico delle cellule di Purkinje, mentre le fibre muscoidi contraggono sinapsi con i nuclei profondi e, nello strato granulare, contraggono sinapsi con i dendriti delle cellule granulari e con gli assoni delle cellule di Golgi (interneuroni inibitori), formando i cosiddetti glomeruli cerebellari. I pirenofori delle cellule dei granuli si trovano anch'essi nello strato dei granuli, mentre i loro assoni si portano nello strato molecolare, in cui si dividono a T, formando le fibre parallele, che si estendono attraverso gli alberi dendritici di numerose cellule di Purkinje. Si chiamano fibre parallele perché decorrono parallelamente all'asse maggiore del *folium*.

Nello strato molecolare, inoltre, vi sono ulteriori interneuroni inibitori: le cellule stellate esterne (che inibiscono i dendriti delle cellule di Purkinje) e le cellule a canestro (che avvolgono con funzione inibitoria i pirenofori delle cellule di Purkinje). Gli interneuroni inibitori dello strato molecolare hanno un'importante funzione, perché, mediante un meccanismo di inibizione laterale, permettono di aumentare il contrasto tra le cellule di Purkinje eccitate e quelle circostanti. Le fibre parallele (orientate in senso medio-laterale), infatti, eccitano direttamente una fila di cellule di Purkinje (orientate in senso antero-posteriore), ma, inoltre, inibiscono quelle delle file adiacenti in maniera indiretta attraverso connessioni disinaptiche che coinvolgono come interneuroni inibitori le cellule a canestro e le cellule stellate.

Ogni cellula di Purkinje riceve contatti sinaptici da 200 000 a 1 milione di granuli (fibre parallele). Ogni fibra muscoide a sua volta innerva molteplici granuli, quindi la via fibre muscoidi-fibre parallele-cellule di Purkinje presenta un elevatissimo grado di convergenza. Le fibre rampicanti, invece, hanno modalità di connessione estremamente specifiche: ogni fibra rampicante contrae sinapsi con 7 cellule di Purkinje (18), mentre ogni cellula di Purkinje riceve una sola fibra rampicante. Queste modalità di connessione estremamente specifiche suggeriscono che il sistema delle fibre rampicanti sia specializzato per esercitare un accurato controllo dell'attività elettrica delle cellule del Purkinje (15,19,20).



## Fisiologia del cervelletto

---

Il cervelletto, secondo una classificazione funzionale, può essere suddiviso in tre aree che hanno ruoli diversi nel controllo dei diversi tipi di movimenti: il vestibolocerebello, lo spinocerebello e il cerebrocerebello. Tale suddivisione funzionale si sovrappone in gran parte a quella filogenetica: il vestibolocerebello è la parte filogeneticamente più antica (archicerebello), lo spinocerebello si è sviluppato più tardi (paleocerebello), mentre il cerebrocerebello è filogeneticamente più recente (neocerebello).

Il vestibolocerebello comprende il lobo flocculo-nodulare, che riceve afferenze vestibolari e visive, proietta ai nuclei vestibolari del tronco dell'encefalo ed è implicato nell'equilibrio, nei riflessi di origine vestibolare e nei movimenti oculari.

Lo spinocerebello, che comprende il verme e le regioni intermedie degli emisferi, riceve afferenze somatosensitive e propriocettive dal midollo spinale. Il verme riceve afferenze dalle regioni prossimali del corpo e proietta, tramite il nucleo del fastigio, alle regioni della corteccia cerebrale e del tronco encefalico dalle quali prendono origine i sistemi discendenti mediali, che controllano i muscoli prossimali del corpo e degli arti. Le regioni intermedie degli emisferi ricevono afferenze somatosensitive dagli arti, proiettano al nucleo interposito, che invia proiezioni ai sistemi corticospinale laterale e rubrospinale e perciò controlla i muscoli distali degli arti e quelli delle dita.

Il cerebrocerebello, che comprende le parti laterali degli emisferi, ha connessioni afferenti ed efferenti con la corteccia cerebrale. Le sue proiezioni raggiungono il nucleo dentato, che a sua volta proietta alle cortecce motoria, premotoria e prefrontale. È implicato in larga misura nella pianificazione e nell'esecuzione del movimento. La trasmissione elettrica del segnale è diversa per i due tipi diversi di fibre afferenti: le fibre muscolari producono spike semplici, mentre le fibre rampicanti generano spike complessi, perché determinano un prolungato aumento della conduttanza al  $Ca^{2+}$  a livello dei canali voltaggio-dipendenti del soma e dei dendriti delle cellule di Purkinje con cui stabiliscono sinapsi. Gli spike complessi delle fibre rampicanti sono correlati funzionalmente al fenomeno dell'LTD (Long Term Depression, ovvero depressione sinaptica a lungo termine), con il quale il cervelletto è coinvolto nella correzione dei movimenti errati e, quindi, nell'apprendimento

motorio (memoria procedurale). La depressione a lungo termine della sinapsi fibra parallela-cellula di Purkinje determina, infatti, una minore scarica delle cellule di Purkinje, che, dato che sono inibitorie, si traduce in una maggiore scarica dei neuroni del nucleo cerebellare a cui esse proiettano e, quindi, in un maggior contributo cerebellare al movimento. L'attività spontanea dei nuclei olivari aumenta sensibilmente durante la fase di apprendimento di un nuovo compito motorio, per ridursi al minimo a compito appreso (15,19,20).

Sembra inoltre che il cervelletto sia implicato in alcune funzioni cognitive del tutto distinte dalla pianificazione motoria, come la memoria operativa (15). Ultimamente, oltre al ruolo nelle funzioni motorie, ben studiato e riconosciuto, infatti, si sta evidenziando sempre di più anche il rapporto del cervelletto con le funzioni cognitive (21).

## **Il cervelletto nella sclerosi multipla**

---

Il cervelletto è un sito di predilezione per le lesioni della sclerosi multipla (SM). Nel cervelletto dei soggetti con SM sono state osservate regioni di demielinizzazione sia della sostanza bianca sia della grigia; quelle della grigia rappresentano la caratteristica patologica principale (11).

Oltre alle lesioni demielinizzanti, è importante considerare anche l'atrofia della corteccia cerebellare dei multipli lobuli cerebellari, che è fortemente associata all'entità dei disturbi dell'equilibrio dei soggetti con SM (22). Analogamente alla demielinizzazione corticale in altre regioni corticali, molti studi istopatologici hanno evidenziato la presenza di demielinizzazione corticale cerebellare, in particolare in soggetti con SM progressiva (11). L'estensione della demielinizzazione corticale nel cervelletto sembra essere correlata all'estensione complessiva della patologia, associata al carico di demielinizzazione corticale dell'encefalo (23) e alla proporzione complessiva della demielinizzazione della sostanza grigia (24).

Nei soggetti con SM, il cervelletto è coinvolto in disturbi motori (atassia, disturbi dell'equilibrio e disfunzione della motilità oculare), ma anche in disturbi neurocognitivi (11).

I segni e sintomi motori cerebellari (per es. il tremore, l'atassia del tronco e della marcia, disturbi oculomotori) possono essere la manifestazione clinica predominante nell'11-33%

dei pazienti con SM (25) ed è stato stimato che il 30% dei pazienti con sclerosi multipla a ricadute e remissioni (SMRR) presenta almeno una lesione cerebellare (26). È stato dimostrato che i pazienti con disfunzione cerebellare in fase precoce di malattia tendono a sviluppare disabilità severa più rapidamente (12). Specialmente nella fase progressiva di malattia, la disfunzione motoria, frequentemente di origine cerebellare, è uno dei principali fattori che contribuisce a una ridotta qualità di vita (27).

Per quanto riguarda le CIS, i criteri di Mc Donald del 2010 dicevano che se c'era una lesione in risonanza magnetica sintomatica nel contesto di una CIS, questa non andava considerata come lesione, per evitare di "contarle due volte". Tintore et al. (2016), tuttavia, hanno dimostrato che i pazienti con CIS con una lesione del tronco encefalico o del cervelletto visibile in RM (risonanza magnetica) hanno maggiore rischio di sviluppare SM clinicamente definita e disabilità rispetto a chi non ne ha (28). Adesso, secondo la recente revisione dei criteri di Mc Donald di Thompson et al. (2018), una lesione sintomatica in un paziente con una CIS che coinvolge il tronco encefalico o il cervelletto può essere inclusa come evidenza di disseminazione nello spazio (8).

## **L'EDSS e i suoi limiti**

---

Fino ad ora, l'EDSS (Expanded Disability Status Scale) rimane la scala di misura più utilizzata dai neurologi per la valutazione dei pazienti con SM. L'EDSS è una scala ordinale su 10 livelli base (0= normalità, 10= morte) con incrementi di 0,5 (in totale 20 livelli), vedi Figura 9.

Il 6 è uno dei punteggi più importanti per la sua rilevanza clinica, in quanto è indicativo della perdita di autonomia clinica e della necessità di utilizzare un appoggio per deambulare. Il punteggio EDSS è determinato da due fattori: autonomia/limitazioni nella deambulazione e punteggi della sotto-scala FSS di Kurtzke (Functional System Scores), relativi al variabile coinvolgimento di otto sistemi funzionali: visivo, troncoencefalico, piramidale, cerebellare, sensitivo, sfinterico vescicale e rettale, cognitivo-affettivo e deambulazione. I punteggi FSS sono compresi tra 0 (normalità) e 5/6 (funzione totalmente compromessa), tranne la deambulazione, che prevede 12 sub-score, secondo il Neurostatus Scoring di L. Kappos (2011), che standardizza, modificando leggermente, la scala ideata da Kurtzke nel 1983 (29,30). Un grande vantaggio di questa scala è il suo uso

internazionale come endpoint primario nei trial clinici per verificare l'efficacia degli interventi terapeutici, cosa che rende possibile il confronto nel panorama della letteratura scientifica. Recenti studi, oltre all'EDSS, utilizzano come misura di outcome anche l'MSFC (Multiple Sclerosis Functional Composite), una scala funzionale suddivisa in tre parti: la valutazione del cammino facendo percorrere al paziente un breve percorso (T25FW= "Timed 25-Foot Walk"), la valutazione della funzione degli arti superiori utilizzando il 9HPT ("9-Hole Peg Test") e un test di concentrazione/attenzione per valutare le capacità cognitive (PASAT= "Paced Auditory Serial Addition Test"). Per valutare le funzioni cognitive esiste anche il Symbol Digit Modalities Test (SDMT) (31). Nonostante l'MSFC stia diventando sempre più importante nei trial clinici, l'EDSS rimane lo strumento di valutazione più valido e maggiormente utilizzato.

Uno dei limiti nell'affidabilità dell'EDSS, però, è la variabilità intra e inter-operatore, ovvero, rispettivamente, le variazioni del punteggio EDSS sia da parte dello stesso medico in due momenti diversi (nonostante un quadro invariato del paziente) sia tra neurologi diversi per lo stesso soggetto: entrambi gli aspetti (intra e inter- variabilità) hanno una minore stabilità per punteggi bassi all'EDSS (1.0-3.5) piuttosto che per score più alti (32). Differenti intervalli di concordanza (esatta corrispondenza tra due punteggi oppure differenza di 0.5, 1 o più punti nell'EDSS) cambiano il livello di affidabilità della scala. Più è grande la deviazione concessa, più l'EDSS risulta affidabile e gli studi che attestano una buona riproduzione dell'EDSS accettano una maggiore deviazione della stessa. Un altro limite consiste nella scarsa sensibilità, soprattutto nelle forme iniziali di malattia, aspetto meno evidente, invece, quando l'EDSS è maggiore a 6. In numerosi studi è stato criticato il fatto che un cambiamento del punteggio dell'EDSS assume un significato diverso a seconda della posizione nella scala: una differenza tra 1.0 e 2.0 ha una rilevanza diversa rispetto a quella tra 6.0 e 7.0. Come riportato dalla letteratura, i valori più bassi della scala (0-4.0) sono influenzati dalle alterazioni degli otto FSS rilevate all'esame neurologico, mentre i valori sopra 4.0 sono basati principalmente sulla deambulazione e valori sopra 6 si concentrano sul grado di disabilità del paziente (33).

Inoltre, l'EDSS ha delle carenze, in particolare per quanto riguarda la valutazione di sottili cambiamenti nella performance neurologica dei pazienti, per esempio nei compiti motori fini correlati a deficit cerebellari (11). Per quanto riguarda i deficit dell'equilibrio, questi sono generalmente stimati soltanto attraverso il test di Romberg e il "tandem straight line

walking” durante l’esame neurologico, ma per cercare di essere più precoci e sensibili nel rilevare tali disturbi, potrebbe essere utile ricorrere a valutazioni che diano anche una misura quantitativa dell’eventuale alterazione presente, per esempio il test dell’equilibrio statico (Standing Balance Test) dell’NIH toolbox.

### **Il test dell’equilibrio statico dell’NIH toolbox**

L’NIH Toolbox è un insieme di brevi misure multidimensionali che si dividono in quattro domini funzionali: cognitivo, emotivo, motorio e sensitivo. Il test dell’equilibrio statico (Standing Balance Test) fa parte del dominio motorio ed è una misura progettata e validata per valutare l’equilibrio statico dei soggetti tra i 3 e gli 85 anni. Richiede circa sette minuti per somministrarlo e prevede che il paziente assuma e mantenga fino a cinque posture in piedi, ciascuna per cinquanta secondi. La sequenza delle posture è: a piedi uniti a occhi aperti su una superficie solida, a piedi uniti a occhi chiusi su una superficie solida, a piedi uniti a occhi aperti su una superficie di gommapiuma, a piedi uniti a occhi chiusi su una superficie di gommapiuma e infine a occhi aperti su una superficie solida con un piede davanti all’altro con la punta dell’uno che tocca il tallone dell’altro. Mentre il paziente esegue il test, vengono registrate le oscillazioni posturali per ogni posizione, utilizzando un accelerometro che il partecipante indossa a livello della vita. L’informazione dell’oscillazione in senso antero-posteriore del paziente è collegata a un i-Pad, che raccoglie i dati. Questi dati sono poi convertiti per ciascun partecipante in un theta score che rappresenta la relativa capacità d’equilibrio complessiva del soggetto. Quindi, vengono forniti standard corretti per l’età, non corretti e corretti completamente, cioè per sesso, e i relativi percentili. Inoltre, vengono forniti due rapporti, che confrontano la performance della seconda posizione rispetto alla prima e della quarta rispetto alla prima. Il rapporto posizione 2/posizione 1 rappresenta la capacità del paziente di utilizzare input dal sistema somatosensitivo e vestibolare per mantenere l’equilibrio quando vengono interrotte le afferenze visive, mentre il rapporto posizione 4/posizione 1 riflette la relativa riduzione della stabilità posturale quando sistema visivo e somatosensitivo vengono perturbati contemporaneamente (questo è tipicamente rappresentativo dell’efficacia del sistema vestibolare per il controllo posturale). Score theta più alti al test del Balance indicano un migliore equilibrio. Per quanto riguarda i rapporti tra le posture, sono migliori score più bassi (più vicini a 1) (34,35).

Con il test dell'equilibrio dell'NIH toolbox si ottiene quindi una misura quantitativa e non più semi-quantitativa come nella valutazione della stabilità posturale nell'EDSS.

L'equilibrio ha un ruolo critico nelle iniziali alterazioni della deambulazione dei soggetti con sclerosi multipla in fase precoce e, come recentemente dimostrato da R. Brandstadter et al. (36), lo Standing Balance Test dell'NIH toolbox, insieme a valutazioni di equilibrio dinamico, fornisce una misura più sensibile rispetto alle scale tradizionali (EDSS e T25FW) in rapporto alla deambulazione descritta dal paziente, ai marker di risonanza magnetica e al rischio di cadute future. Ciò mette in luce la possibilità di implementare con questi test gli outcome funzionali dei pazienti SM nella pratica clinica e nei trial.

## **Risonanza magnetica e cervelletto dei pazienti con SM**

---

La perdita progressiva di volume cerebrale è una caratteristica comune nella SM, avviene precocemente nel corso della malattia, riflette il danno nella sostanza bianca e nella sostanza grigia ed è stata associata a disabilità (37,38).

Per lungo tempo la perdita di volume cerebellare non è stato il focus primario della ricerca con risonanza magnetica, in parte per le difficoltà riguardanti la corretta segmentazione dei fini giri cerebellari, i solchi, i nuclei cerebellari e l'estrazione del tessuto cerebellare dalle adiacenti strutture infratentoriali. Mentre in prima istanza sono stati sviluppati e validati strumenti di segmentazione automatica per l'intero encefalo o le strutture sovratentoriali, metodi che si focalizzano sul cervelletto e che permettano la segmentazione dei suoi lobuli sono stati sviluppati solo di recente (11).

L'avvento della risonanza magnetica con campo magnetico ad elevata ultra-elevata intensità (high ultra-high field) ha migliorato in modo significativo lo studio delle strutture infratentoriali, come il cervelletto e il tronco encefalo, permettendo l'acquisizione di immagini ad alta risoluzione (inferiore a 1 mm<sup>3</sup> voxel). Tuttavia, sono disponibili solo pochi metodi per l'analisi dei lobuli cerebellari. Ne è un recente esempio SUITer (Spatially unbiased infratentorial for enhanced resolution) (39).

## **SUITer: Spatially unbiased infratentorial for enhanced resolution**

---

SUITer (Spatially unbiased infratentorial for enhanced resolution) è un'implementazione di un algoritmo automatizzato (SUIT) studiata recentemente da El Mendili et al. (39) ed è un metodo che permette la segmentazione dei lobuli cerebellari in sequenze di risonanza magnetica ad alta risoluzione, acquisite sia a 3T sia a 7T. SUITer è stato validato su cinque esami di imaging segmentati manualmente e confrontati con SUIT, FreeSurfer e reti neurali convoluzionali (CNN= convolutional neural networks). SUITer è stato poi applicato ad acquisizioni 3T e 7T di 10 pazienti con sclerosi multipla e di 10 controlli sani ed è stato dimostrato che questo nuovo metodo implementato fornisce un'accurata segmentazione delle strutture infratentoriali attraverso diverse risoluzioni e intensità di campo magnetico, vedi Figura 10 e Figura 11.

Il metodo SUITer è costituito dai seguenti passi: (1) segmentazione delle neuroimmagini RM in tipi di tessuto (sostanza grigia, sostanza bianca e liquor), utilizzando CAT12 (Computational Anatomy Toolbox); (2) isolamento del cervelletto e del tronco encefalico; (3) segmentazione dei lobuli cerebellari ottenuta adattando gli algoritmi di SUIT per permetterne l'applicazione a set di dati ad alta risoluzione e (4) segmentazione della sostanza bianca e del tronco encefalico, ottenuta mascherando i lobuli cerebellari dall'insieme cervelletto-tronco encefalo ottenuto dallo step (2).

Tra SUIT e SUITer ci sono alcune differenze metodologiche. SUITer utilizza per la segmentazione CAT12, un'estensione più accurata di SPM12 (Statistical Parametric Mapping 12), usato in SUIT. CAT12 è integrato con DARTEL (Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie algebra), che consiste in una normalizzazione con un preesistente atlante neuroanatomico MNI (Montreal Neurological Institute), generato utilizzando 555 soggetti sani dal database IXI (Information eXtraction from Images) (IXI555), con una risoluzione di 1,5 mm anziché quella di 2 mm prevista dal template MNI152 disponibile in SPM12. Inoltre, in SUITer la segmentazione dei lobuli cerebellari di SUIT è stata corretta per il liquido cefalorachidiano: questo aumenta l'accuratezza della segmentazione dei lobuli. In aggiunta, SUITer fornisce la segmentazione della sostanza bianca e della sostanza grigia cerebellari, che non vengono prodotte dall'elaborazione dei dati standard eseguita con SUIT.

Uno dei principali vantaggi di SUITer è che questo metodo non solo fornisce la segmentazione dei lobuli (con un'accuratezza comparabile a quella ottenibile tramite molti dei metodi disponibili) sia a risoluzione standard sia elevata, ma fornisce anche la

segmentazione del troncoencefalo e della sostanza bianca cerebellare (cosa non prevista da SUIT). Dall'altra parte, FreeSurfer fornisce la segmentazione del tronco encefalico e della sostanza bianca cerebellare, ma non dà la possibilità di quantificare i volumi dei lobuli.

SUITer, inoltre, è il primo metodo di segmentazione ottimizzato per dati ad alta risoluzione e che prevedano l'acquisizione con un campo magnetico ad intensità molto elevata (ultra-high field). La principale limitazione di questo strumento è costituita dalla segmentazione del tronco encefalico. I dati del tessuto troncoencefalico a 7T includono i voxel dell'arteria basilare, che ha alti valori di contrasto nelle immagini a 7T. La segmentazione del tronco encefalo a 7T potrebbe potenzialmente essere corretta da una soglia impostata in modo da escludere i voxel con alti valori di contrasto. Questa possibilità potrebbe essere tenuta in considerazione per una futura implementazione del nuovo metodo.

SUITer, dunque, fornisce una segmentazione accurata dei lobuli cerebellari nei controlli sani e in condizioni patologiche, sia nelle immagini a risoluzione standard sia elevata, sia high field sia ultra-high field e rappresenta uno strumento versatile per l'analisi delle strutture infratentoriali, fornendo contemporaneamente la segmentazione dei lobuli cerebellari, della sostanza bianca cerebellare e del tronco encefalico in un tempo di processing ragionevole e con risorse computazionali standard (39).

### **Studi precedenti a confronto**

Alcuni studi trasversali, elencati nella tabella 3, hanno cercato di evidenziare la rilevanza dell'atrofia cerebellare nei soggetti con SM. In generale, questi studi hanno mostrato una riduzione del volume cerebellare totale in pazienti con SM quando confrontati con controlli sani, più marcatamente nelle forme progressive di malattia (11). Secondo Prosperini et al. (2013) (22), i disturbi dell'equilibrio dovuti alla SM sembrano essere correlati alla disconnessione tra midollo spinale, cervelletto e corteccia cerebrale, che a sua volta porta ad atrofia delle regioni sensitive e motorie del cervelletto che sono funzionalmente connesse con specifiche aree corticali.

Secondo D'Ambrosio et al. (2016) (40), le anomalie volumetriche cerebellari hanno un ruolo importante per quanto riguarda le performance motorie e cognitive dei pazienti con SM: in particolare, il volume cerebellare postero-inferiore sembra essere coinvolto nella



variabilità di misure cognitive, mentre il volume cerebellare anteriore nella variabilità delle performance motorie (è importante quindi valutare il danno cerebellare subregionale). Inoltre, in linea con osservazioni precedenti (41), non è stata trovata una correlazione tra volumi cerebellari e carico lesionale infratentoriale in T2: questo suggerisce che l'atrofia cerebellare potrebbe essere indipendente dalla demielinizzazione locale della sostanza bianca. Secondo Coccozza et al. (2017) (42) l'atrofia di specifici lobuli cerebellari spiega differenti aspetti della disabilità motoria e cognitiva in pazienti con SM progressiva (sia SMPP sia SMSP).

Per quanto riguarda le funzioni cognitive cerebellari, è stato recentemente dimostrato da Coccozza et al. (2018) (43) che nei pazienti con SM progressiva è presente un riarrangiamento della connettività funzionale (CF) che coinvolge il cervelletto posteriore, il polo frontale e aree coinvolte in network di rilevanza. Il riarrangiamento della CF cerebellare è parzialmente indipendente dal danno strutturale cerebellare macroscopico ed è probabilmente dovuto a un'espressione di un maladattamento funzionale piuttosto che un meccanismo compensatorio.

Come recentemente dimostrato in uno studio longitudinale da Brandstadter et al. (36), le lesioni infratentoriali sono il parametro di risonanza magnetica che meglio predicono l'equilibrio dei pazienti SM. Le disfunzioni dell'equilibrio concorrono nelle alterazioni della deambulazione in fase precoce di malattia. Soggetti con SM con grandi disturbi nel controllo dell'equilibrio hanno sia difficoltà a camminare sia un maggiore rischio di caduta. L'influenza di ciascun sistema (sensitivo-motorio, cerebellare, ecc.) sulla stabilità posturale può essere molto individuale, variare da paziente a paziente e anche cambiare nel tempo con la progressione della malattia. Per esempio, la disfunzione piramidale sembrerebbe iniziare a predominare più tardi nel corso della malattia, mentre il deficit cerebellare sembra essere più significativo in una fase precoce.

<b>Autore/ anno</b>	<b>Soggetti per gruppo di studio</b>	<b>Misure di outcome in RM</b>	<b>Valutazione clinica</b>	<b>Correlazioni clinico- radiologiche (elementi principali)</b>	<b>Elementi aggiuntivi</b>
Prosperini et al. 2011 (44)	SMRR=21  SMSP=10	Carico lesionale cerebrale totale T1 e T2  Analisi ROI del carico lesionale sovra e sottotentoriale	EDSS  Posturografia statica  Self-report delle cadute nei sei mesi precedenti ("fallers" vs "non-fallers")	I pazienti "fallers" avevano un'EDSS più alta, peggiore equilibrio statico e maggiore carico lesionale T2 nel tronco encefalo e a livello del peduncolo cerebellare medio rispetto ai "non-fallers"  Correlazione positiva tra carico lesionale T2 troncoencefalico e disturbi dell'equilibrio statico in piedi a occhi aperti  Associazione di un maggiore carico lesionale del tronco encefalo e del peduncolo cerebellare medio con un più ampio spostamento del baricentro a occhi chiusi e cadute ricorrenti	Nessuna differenza tra "fallers" e "non-fallers" rispetto a: carico lesionale cerebrale totale T1 e T2, carico lesionale sovratentoriale e carico lesionale del paleo e del neocerebello
Prosperini et al. 2013 (22)	Controlli=25  RRMS=48	Carico lesionale cerebrale totale, sovra e infratentoriale T1 e T2  Volume cerebrale totale, SB, SG Misure DTI (FA, MD, AD, RD) Differenze voxel based regionali di SG	EDSS  Posturografia statica	Correlazione della severità dei disturbi dell'equilibrio con peggiori parametri DTI lungo le connessioni cerebellari e i fasci associativi di SB sovratentoriali e con atrofia della SG dei lobuli superiori (IV, V, VI) e del lobulo VIII del cervelletto.	I pazienti con SM avevano una peggiore stabilità posturale, estese alterazioni in molti fasci di SB e atrofia della SG in molte regioni cerebrali.
Weier et a. (2014) (45) (si concentra più sulla parte <u>cognitiva</u> del cervelletto)	Pazienti con SM senza disturbi cerebellari (cFSS=0)=52  Pazienti con SM con disturbi cerebellari (cFSS>0)=120	Volume della SB e SG cerebellare  Volume cerebrale totale  Carico lesionale cerebrale totale e cerebellare	EDSS/ cFSS  9-HPT  Test neuropsicologico  Test di fatica (FSMC)	I pazienti con disturbi cerebellari avevano minore volume cerebellare totale, minore volume cerebrale normalizzato e maggiore carico lesionale cerebrale totale e peggiore performance nei test PASAT, SDMT	

<b>Autore/ anno</b>	<b>Soggetti per gruppo di studio</b>	<b>Misure di outcome in RM</b>	<b>Valutazione clinica</b>	<b>Correlazioni clinico- radiologiche (elementi principali)</b>	<b>Elementi aggiuntivi</b>
Weier et al. (2015) (46)	Controlli=35  SMRR=25  NMO=30 (neuromielite ottica)	Volume della SB e SG cerebellare  Volume cerebrale totale  Carico lesionale cerebrale e cerebellare  Volume midollo cervicale alto	EDSS/ cFSS  9-HPT	Associazione di un maggiore carico lesionale cerebellare con peggiore EDSS e peggiore performance al 9-HPT in pazienti SM	Pattern di atrofia focale in NMO (midollo cervicale alto)  Pattern di atrofia diffusa in SM (sia cerebellare sia cerebrale totale, ma non del midollo cervicale alto)
Weier et al. (2016)	<u>Coorte pediatrica</u>  Controlli=33  SMRR=28	Volume della SB e SG cerebellare regionale  Volume cerebrale totale  Carico lesionale cerebrale totale e cerebellare	EDSS  Test neuropsicologici	Nonostante non ci siano differenze statisticamente significative nel volume cerebellare dei pazienti con SM rispetto ai controlli, il volume cerebellare posteriore e il carico lesionale infratentoriale rendono conto della maggiore variabilità delle misure di processing delle informazioni e del linguaggio nei pazienti SM ma non nei controlli	
D'Ambrosio et al. (2016) (40)	Controlli=32  SMRR=52  SM benigna=20 (EDSS $\leq$ 3.0, disease duration $\geq$ 15 years)  SMSP=23	Volume cerebellare regionale di SB e SG  Volume cerebrale totale  Carico lesionale totale cerebrale e cerebellare	EDSS/ cFSS  9-HPT  PASAT  SDMT	Il carico lesionale in T2 e il volume cerebellare anteriore sono predittori indipendenti dell'EDSS (performance motoria)  Il volume cerebellare anteriore è un predittore indipendente del 9-HPT (performance motoria)  Il carico lesionale in T2 e il volume cerebellare posteriore sono predittori indipendenti dei test SDMT e PASAT (performance cognitiva)	La performance della mano destra dominante al 9-HPT non è stata differente nei pazienti SM rispetto ai controlli  Rispetto ai controlli, solo i pazienti SMSP avevano un minore volume cerebellare (totale e posteriore)

<b>Autore/ anno</b>	<b>Soggetti per gruppo di studio</b>	<b>Misure di outcome in RM</b>	<b>Valutazione clinica</b>	<b>Correlazioni clinico- radiologiche (elementi principali)</b>	<b>Elementi aggiuntivi</b>
Moroso et al. (2017) (47)	CIS=37  SMRR=32  Controlli=36	Volume cerebellare regionale di SB e SG  Volume cerebrale totale  Carico lesionale totale cerebrale e cerebellare	EDSS/ cFSS  Test neuropsicologici	Associazione tra la riduzione del volume dei lobuli cerebellari posteriori (spec. del verme) con ridotte misure cognitive (information processing)	Riduzione significativa del lobulo VI bilat, della Crus I sinistra, del VIIb destro e del volume cerebellare totale nei pazienti rispetto ai controlli
Inglese et al. (2017) (48) Studio longitudinale	SMPP=26  Controlli=20	Volume cerebrale totale, volume cerebrale di SB e SG (normalizzati)  Carico lesionale cerebrale in T1 e T2  Volume cerebellare totale  Carico lesionale cerebellare di SB e SG	EDSS  T25FW  9-HPT	Il volume cerebellare e il volume della corteccia cerebellare volume erano percentualmente significativamente ridotti dopo un anno di follow-up nei pazienti con progressione clinica della malattia rispetto ai pazienti che non sono progrediti.  Il volume cerebellare e della corteccia cerebellare sono potenziali misure per monitorare l'efficacia del trattamento in pazienti con SMPP.	
Cocozza et al. (2017) (42)	SMP=82, di cui SMPP=47, SMSP=35  Controlli=46	Frazione sopratentoriale di SG  Carico lesionale totale cerebrale e cerebellare  Volume cerebellare totale e regionale	EDSS/ cFSS  T25FW  9-HPT  SDMT  BVMT  CVLT	Minore volume cerebellare nei soggetti con SMP rispetto ai controlli.  Le misure cerebellari forniscono informazioni sulle performance sia motorie sia cognitive.  pazienti con SMP.  L'atrofia di specifici lobuli cerebellari spiega differenti aspetti della disabilità motoria e cognitiva in pazienti con SMP.	Il volume lesionale cerebellare e l'atrofia dei lobuli VI, Crus I a VIIIa sono predittori indipendenti delle performance nei test 9-HPT, SDMT, BVMT e CVLT.

<b>Autore/ Anno</b>	<b>Soggetti per gruppo di studio</b>	<b>Misure di outcome in RM</b>	<b>Valutazione clinica</b>	<b>Correlazioni clinico- radiologiche (elementi principali)</b>	<b>Elementi aggiuntivi</b>
Cocozza et al. (2018) (43) (si concentra più sulla parte <u>cognitiva</u> del cervelletto)	SMP=29  Controlli=22	Carico lesionale cerebrale totale e cerebellare in T2  Volume cerebellare totale e regionale  Volume di SB, SG e liquor (normalizzati)  Connettività funzionale (CF) cerebellare	EDSS  BICAMS battery: SDMT BVMT CVLT	Riduzione del volume cerebellare totale e di tutti i lobuli cerebellari investigati nei pazienti SMP rispetto ai controlli sani.  I pazienti con SMP hanno mostrato un riarrangiamento della CF cerebellare che è parzialmente indipendente dal danno strutturale cerebellare macroscopico.	Riduzione della CF tra Crus II/Lobulo VIIb e il polo frontale destro, con un'aumentata CF tra il lobulo VIIb e il giro precentrale destro. Quest'ultimo mostrava una correlazione inversa con gli score del BVMT.
George et al. (2019) (49)	RIS=21  Controlli=38	Carico lesionale totale in T1 Volume cerebrale totale di SB e SG Volume cerebrale sopratentoriale di SB e SG Volume cerebellare totale di SB e SG e regionale (anteriore e posteriore) di SG		I volumi di SB cerebellare e il volume anteriore di SG cerebellare erano significativamente ridotti nei pazienti con RIS rispetto ai controlli. Questo supporta segnalazioni di atrofia cerebrale regionale nei pazienti con RIS prima dello sviluppo di un attacco correlato alla demielinizzazione infiammatoria.	
Brandstadter et al. (2020) (36) Studio longitudinale	early SMRR=185  Controlli=50	Volume cerebrale totale e regionale  Carico lesionale totale T2 Volume e conta lesionale infratentoriale T2  Conta lesionale del midollo cervicale	EDSS  T25FW  2-min. Walk Test Standing Balance (NIH toolbox) Dynamic Balance measures  Self-report delle cadute	I pazienti hanno avuto peggiori performance nei test di equilibrio rispetto ai controlli.  I test di equilibrio correlano meglio con le misure di RM rispetto ai walking test e all'EDSS.	30% dei pazienti hanno riportato una caduta o una quasi-caduta dopo un anno e le misure di equilibrio dinamico sono l'unico fattore predittivo indipendente delle cadute.

Tabella 3: confronto tra studi precedenti. *SB*= sostanza bianca, *SG*=sostanza grigia, *SMP*=sclerosi multipla progressiva, *BICAMS*= Brief International Cognitive Assessment of Multiple Sclerosis, *Brief Visuospatial Memory Test-Revised*, *CVLT*=California Verbal Learning Test II, *cFSS*= cerebellar functional system score.

## SCOPO DELLO STUDIO

---

I sintomi cerebellari, in particolare i disturbi dell'equilibrio, sono tra i sintomi più frequenti e invalidanti per i pazienti con sclerosi multipla, ma risultano difficilmente quantificabili, soprattutto nelle fasi precoci di malattia. Fino ad ora per misurare tali disturbi ci si è affidati all'EDSS, scala largamente utilizzata nella pratica clinica e in ambito di ricerca. Tuttavia, questa misura ha dei limiti, in quanto non permette di riconoscere i più sottili deficit dell'equilibrio e poiché si tratta di una scala semiquantitativa anziché quantitativa. Tra le nuove misure che stanno emergendo per identificare e quantificare i disturbi dell'equilibrio, lo Standing balance test dell'NIH toolbox è uno strumento promettente per individuare precocemente e misurare quantitativamente i disturbi dell'equilibrio. Un recente lavoro di Brandstadter et al. (36), ha evidenziato come le misure ottenute con l'NIH toolbox permettono di identificare disturbi dell'equilibrio anche in soggetti con bassa disabilità, permettendo di predire il rischio di caduta dei pazienti nell'anno successivo, rivelandosi perciò di grande utilità clinica nell'identificare precocemente pazienti più a rischio e che possono pertanto giovare di trattamenti fisioterapici precoci. Come atteso, i risultati dell'NIH toolbox correlano con misure radiologiche di malattia a livello della risonanza magnetica. Tuttavia la specificità e la sensibilità di questo toolbox e i suoi rapporti con misure più specifiche di danno cerebellare sono ancora ignoti. In particolare, non è chiaro quali delle diverse componenti della patologia cerebellare (lesioni demielinizzanti della sostanza bianca o danno della componente neuronale e conseguente atrofia) siano maggiormente responsabili dei disturbi dell'equilibrio evidenziati con l'NIH toolbox. Nuove metodiche di imaging come il metodo SUITer recentemente sviluppato permettono di ottenere una segmentazione accurata dei lobuli cerebellari, della sostanza bianca e della sostanza grigia separatamente (39). Questo permette di misurare dati volumetrici cerebellari totali e regionali in modo più accurato.

Lo scopo principale dello studio è quello di investigare i correlati del deficit cerebellare, misurati con un nuovo test quantitativo (NIH Standing Balance Test). In particolare gli obiettivi del nostro studio sono a) identificare la correlazione tra le misure cliniche dei disturbi cerebellari misurati tramite l'NIH Standing Balance Test e i marker di risonanza magnetica della SM; b) identificare in particolare quali specifici lobuli cerebellari sono maggiormente correlati a tali deficit, al fine di ampliare le attuali conoscenze in merito alla fisiopatologia del cervelletto nella sclerosi multipla.

## **METODI**

---

Sono stati prospetticamente arruolati 129 pazienti del Centro Sclerosi Multipla del Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia e Genetica (DINOEMI) dell'Università degli Studi di Genova per uno studio osservazionale. Sono stati inoltre arruolati 36 controlli sani. I pazienti e i controlli sani sono stati arruolati tra gennaio 2019 e febbraio 2020.

### **1. Criteri di inclusione**

I criteri di inclusione comprendevano pazienti di età tra 18 e 65 (media 41, DS 11), di cui 93 donne (72%) e 36 uomini (28%). I pazienti inclusi nell'analisi presentavano un fenotipo di SMRR (n=99), SMPP (n=13), SMSP (n=8), CIS o RIS (n=9), la cui definizione clinica rispettava i più recenti criteri diagnostici, vedi Thompson et al. (8). In tabella 4 sono riportate le caratteristiche cliniche più in dettaglio. I criteri di esclusione erano i seguenti: coesistenza di ogni altra patologia sistemica, diagnosi di disturbi psichiatrici, controindicazioni alla RM, gravidanza, storia di trauma cranico, alcolismo, dipendenza da sostanze o altri disturbi neurologici diversi dalla SM. Alla visita di screening, 108 pazienti erano in terapia con un trattamento immunomodulante: 57 pazienti con anti-CD20 (44%), 11 con alemtuzumab (9%), 12 con fingolimod (9%), 8 con dimetilfumarato (6%), 8 con cladibrina (6%), 6 con copaxone (5%), 3 con natalizumab (2,5%), mentre 4 pazienti erano stati sottoposti a trapianto (3%), 2 erano in trattamento con terapie sperimentali (1,5%) e 15 non facevano alcuna terapia (12%).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti nell'arco di due settimane a una visita neurologica con valutazione dell'EDSS, allo Standing Balance Test dell'NIH toolbox e a una risonanza magnetica encefalica a 3 Tesla. I 36 controlli sani, di età media 38 (DS=11), di cui 21 donne e 15 uomini, sono stati sottoposti anch'essi allo Standing Balance Test dell'NIH toolbox. Nessun controllo sano presentava alcuna condizione che potesse interessare il sistema nervoso centrale.

	<b>Pazienti (n. 129)</b>	<b>Controlli (n. 36)</b>
<i>Età, media (DS), anni</i>	41 (11)	38 (11)
<i>Donne, n (%)</i>	93 (72)	21(58)
<i>Uomini, n (%)</i>	36 (28)	15 (42)
<i>Durata malattia, media (DS), anni</i>	10 (9)	/
<b>Fenotipi clinici:</b>		
<i>SMRR, n (%)</i>	99 (77)	/
<i>SMPP, n (%)</i>	13 (10)	/
<i>SMSP, n (%)</i>	8 (6)	/
<i>CIS o RIS, n (%)</i>	9 (7)	/
<b>Terapie modificanti la malattia:</b>		
<i>Anti-CD20, n (%)</i>	57 (44)	/
<i>Alemtuzumab, n (%)</i>	11 (9)	/
<i>Fingolimod, n (%)</i>	12 (9)	/
<i>Dimetilfumarato, n (%)</i>	8 (6)	/
<i>Cladibrina, n (%)</i>	8 (6)	/
<i>Copaxone, n (%)</i>	6 (5)	/
<i>Natalizumab, n (%)</i>	3 (2,5)	/
<i>Trapianto, n (%)</i>	4 (3)	/
<i>INF, n (%)</i>	3 (2)	/
<i>Terapie sperimentali, n (%)</i>	2 (1,5)	/
<i>Nessuna terapia, n (%)</i>	15 (12)	/
<i>EDSS, mediana (IQR)</i>	2,5 (1,0-4,0)	/
<b>Sistemi funzionali:</b>		
<i>Cerebellare, mediana (IQR)</i>	0 (0-1)	/
<i>Pazienti con cFSS&gt;0, n (%)</i>	55 (43)	/
<i>Pazienti con cFSS=0, n (%)</i>	74 (57)	/
<i>Visivo, mediana (IQR)</i>	0 (0-0)	/
<i>Troncoencefalo, mediana (IQR)</i>	0 (0-1)	/
<i>Piramidale, mediana (IQR)</i>	1 (1-2)	/
<i>Sensitivo, mediana (IQR)</i>	1 (1-2)	/
<i>Sfinterico, mediana (IQR)</i>	0 (0-1)	/
<i>Cerebrale, mediana (IQR)</i>	0 (0-0)	/
<i>Ambulation-index, mediana (IQR)</i>	0 (0-1)	/
<b>Θ-score NIH, media (DS)</b>	-0,1 (0,5)	0,3 (0,6)

Tabella 4: Caratteristiche demografiche e variabili cliniche dei pazienti. N= numero DS=deviazione standard, IQR= Inter Quartile Range, cFSS= cerebellar functional system score= sistema funzionale cerebellare dell'EDSS.



## **2. Valutazione clinica**

---

Nei pazienti con sclerosi multipla è stata fatta una valutazione tradizionale della disabilità neurologica complessiva attraverso l'EDSS.

Sia pazienti sia controlli sani sono stati sottoposti allo Standing Balance Test, per valutare con più precisione i disturbi dell'equilibrio statico. Lo Standing Balance Test dell'NIH Toolbox valuta l'oscillazione posturale del soggetto facendogli assumere cinque differenti posizioni di 50 secondi ciascuna mentre indossa a livello della vita un iPod che funziona da accelerometro. Nelle prime 4 posizioni i partecipanti cercavano di rimanere il più possibile fermi a piedi uniti con le braccia incrociate l'una sulla spalla opposta all'altra, 1) sul pavimento a occhi aperti, 2) sul pavimento a occhi chiusi, 3) su una piattaforma di gommapiuma a occhi aperti, 4) sulla piattaforma di gommapiuma a occhi chiusi. Nella quinta posizione i partecipanti dovevano stare in piedi sul pavimento con un piede davanti all'altro con la punta dell'uno che toccava il tallone dell'altro, con le braccia sempre incrociate e gli occhi aperti. La performance è stata quantificata sotto forma di theta score, che rappresenta la stabilità complessiva nelle 5 posizioni. Score theta più alti indicano un migliore equilibrio.

### **3. Valutazione radiologica**

I pazienti e i controlli sani sono stati sottoposti a una risonanza magnetica encefalica a 3 Tesla con sequenze 3D T1-pesata e 3D FLAIR (FLuid Attenuated Inversion Recovery). Per ogni risonanza magnetica è stato misurato il carico lesionale sia sulle immagini FLAIR sia sulle immagini T1-pesate, calcolando infine il numero di lesioni totali e il volume lesionale totale, utilizzando una tecnica di segmentazione semiautomatica (Jim 8.0, Xinapse System, Northants, UK). È stato calcolato sia il volume totale delle lesioni in FLAIR (FLAIR-TLV= total lesion volume) e in T1 (T1-TLV) sia il volume lesionale cerebellare in FLAIR (FLAIR-CLV=cerebellar lesion volume) e in T1 (T1-CLV). È stato inoltre calcolato il numero di lesioni in FLAIR e in T1 sia totali sia soltanto cerebellari. Tutti i carichi lesionali sono stati sottoposti a un doppio controllo da parte di due operatori. Chi ha valutato i carichi sia in prima battuta sia per la revisione finale non era a conoscenza del fenotipo clinico del paziente.

Per misurare il volume cerebrale totale, il volume della sostanza bianca e della sostanza grigia globali è stato utilizzato CAT12 del pacchetto SPM12. Per la segmentazione della sostanza grigia, della sostanza bianca e dei differenti lobuli cerebellari è stato usato SUITer, estensione implementata di SUIT. Inoltre, SUITer ha permesso di correggere la segmentazione dei lobuli per il liquido cefalorachidiano.

Gli outcome di RM scelti per lo studio consistono da una parte in misure associate al carico globale di malattia (per es. il volume cerebrale totale e il FLAIR-TLV), dall'altra in misure legate ai disturbi dell'equilibrio (per es. lesioni cerebellari, volume cerebellare).

<b>TLV in FLAIR mL, media (DS)</b>	11,4 (11,9)
<b>Lesioni totali in FLAIR n, mediana (IQR)</b>	43 (22-72)
<b>CLV in FLAIR mL, media (DS)</b>	0,3 (0,4)
<b>Lesioni cerebellari in FLAIR n, mediana (IQR)</b>	2 (0-5)
<b>TLV in T1 mL, media (DS)</b>	7,2 (8,5)
<b>Lesioni totali in T1 n, mediana (IQR)</b>	36 (21-71)
<b>CLV in T1 mL, media (DS)</b>	0,2 (0,3)
<b>Numero lesioni cerebellari in T1, mediana (IQR)</b>	2 (0-4)
Lesioni cerebellari, numero pazienti con o senza (%)	Sì, 96 (74) No, 33 (26)

Tabella 5: Caratteristiche radiologiche dei pazienti. Caratteristiche radiologiche dei pazienti. *TLV=total lesion volume=carico lesionale totale, CLV=cerebellar lesion volume=carico lesionale cerebellare, n=numero, DS=deviazione standard, IQR= Inter Quartile Range, mL=millilitri.*

# RISULTATI

---

Il gruppo dei pazienti e dei controlli sani erano matchati per età e per sesso.

## 1. Correlazione tra NIH Standing Balance Test e marker di risonanza magnetica

Il theta score è risultato significativamente maggiore nei controlli sani rispetto ai pazienti (+0.3 versus -0.1,  $P < 0,0001$ ). Il theta score correla sia con il volume lesionale cerebellare ( $P < 0,0001$  e  $\rho = -0,313$  per quanto riguarda la correlazione tra theta e FLAIR-CLV e  $P = 0,001$  e  $\rho = -0,299$  per quanto riguarda la correlazione tra theta e T1-CLV) sia con il volume lesionale encefalico totale ( $P = 0,033$  e  $\rho = -0,194$  per quanto riguarda la correlazione tra theta e FLAIR-TLV e  $P = 0,043$  e  $\rho = -0,184$  per quanto riguarda la correlazione tra theta e T1-TLV) (Figure 12, 13, 14, 15).

## 2. Correlazione tra specifici lobuli cerebellari e disturbi dell'equilibrio

La valutazione della correlazione tra theta score e volume lesionale indaga la componente di danno cerebellare dovuta alle lesioni demielinizzanti della sostanza bianca; per indagare invece la componente di danno data dall'atrofia cerebellare totale e degli specifici lobuli cerebellari, sono state fatte correlazioni tra il theta score e il volume cerebellare totale e i volumi regionali dei singoli lobuli (Tabella 6). È risultato che il theta score correla in modo statisticamente e significativo con il volume totale del cervelletto e in particolare sia con la porzione anteriore sia con quella posteriore. Inoltre, per quanto riguarda le correlazioni con gli specifici lobuli cerebellari, il theta score correla con i lobuli I-IV, V, VI, VIIb, VIIIA, X (lobulo flocculo-nodulare), mentre non correla con la Crus (che comprende la maggior parte della porzione emisferica del cervelletto).

Abbiamo infine effettuato delle regressioni lineari per indagare il contributo relativo delle misure di danno cerebellare rispetto a misure radiologiche globali di interessamento dell'encefalo (TLV, volume cerebrale totale e della SB e SG separatamente). È emerso che le misure di danno globale encefalico non sono indipendentemente associate ai valori di theta dei singoli soggetti (dati non mostrati), rendendo pertanto conto del contributo delle lesioni e dei volumi cerebellari nel determinare la performance di equilibrio.

	CERVELLETTO TOT.	ANT.	POST.	I-IV	V	VI	CRUS TOT.	VIIb	VIIIA	VIIIB	IX	X
<b>RHO</b>	0,222	0,240	0,207	0,260	0,213	0,202	0,131	0,235	0,189	0,149	0,139	0,187
<b>P-value</b>	0,013	0,007	0,021	0,004	0,018	0,024	0,146	0,009	0,036	0,098	0,123	0,037

Tabella 6: correlazione tra theta score e volume cerebellare totale e regionale

## DISCUSSIONE

---

Lo scopo principale dello studio era indagare i correlati radiologici cerebellari in pazienti con SM, prendendo in considerazione sia le lesioni demielinizzanti della sostanza bianca cerebellari attraverso lo studio del carico lesionale cerebellare sia la componente degenerativa, attraverso lo studio del volume cerebellare totale e parziale degli specifici lobuli. Mettendo in relazione sia il carico lesionale cerebellare sia il volume cerebellare totale e regionale con il theta score dell'NIH Standing Balance Test (nuova misura quantitativa clinica dei deficit d'equilibrio) (36), abbiamo trovato correlazioni statisticamente significative sia tra il theta score e le lesioni demielinizzanti sia tra il theta e il volume cerebellare totale, in FLAIR e in T1. Questo si conferma quando si corregge per il volume encefalico. Quindi il theta score dell'NIH Standing Balance Test è una misura che correla bene con il danno cerebellare misurabile attraverso i dati di RM e potrebbe diventare uno strumento importante per valutare il deficit dell'equilibrio nei pazienti.

Inoltre il theta score correla in modo statisticamente significativo sia con il volume del lobo anteriore sia del lobo posteriore ( $P < 0,01$ ), però il lobo anteriore mostra una correlazione maggiore ( $\rho = 0,240$ ) con il theta score rispetto al posteriore ( $\rho = 0,207$ ). La correlazione con la porzione cerebellare anteriore è supportata dalle evidenze di precedenti studi, in cui la componente motoria cerebellare è risultata correlata con i dati volumetrici di risonanza del lobo cerebellare anteriore (40). Inoltre, come atteso, è significativa la correlazione tra il theta score e il lobulo X, che corrisponde al lobulo flocculo nodulare, cioè al vestibolocerebello, che riceve afferenze vestibolari e visive, proietta ai nuclei vestibolari del tronco dell'encefalo ed è implicato nell'equilibrio. Dall'altra parte, non c'è una correlazione significativa con la Crus, che comprende la maggior parte della porzione emisferica e quindi verosimilmente è correlata ad altre funzioni ma non al controllo della postura.

Al contrario di quanto atteso, invece, non abbiamo trovato correlazioni statisticamente significative con le strutture vermiane, che fisiologicamente sono coinvolte nel controllo della postura e quindi dell'equilibrio statico: probabilmente questo dato è dovuto alle dimensioni millimetriche del verme cerebellare e alla scarsa sensibilità della metodica usata per volumi così piccoli.

Correlare una misura clinica quantitativa dell'equilibrio come l'NIH Standing Balance Test con misure radiologiche di RM è importante perché dà la possibilità di monitorare il danno cerebellare da un punto di vista sia clinico sia di risonanza magnetica in parallelo. Il danno cerebellare nei pazienti con SM è correlato a una prognosi negativa per la maggiore disabilità che comporta, quindi risulta di fondamentale importanza avere strumenti per misurarlo nel tempo in modo quantitativo, per accorgersi precocemente di eventuali alterazioni a questo livello, monitorarle nel tempo per capirne l'andamento e per avviare eventualmente i pazienti a un iter fisioterapico precoce.

## **CONCLUSIONI**

---

La neuro-infiammazione e la neuro-degenerazione del cervelletto sono associate al peggioramento dell'equilibrio nei pazienti con SM. L'NIH Standing Balance Test, nuova misura quantitativa che valuta il deficit dell'equilibrio dei pazienti con SM, correla bene con i marker di risonanza magnetica di danno cerebellare, sia con il carico lesionale totale (componente neuro-infiammatoria) sia con il volume cerebellare totale e parziale di specifici lobuli (componente neuro-degenerativa). L'atrofia dei lobuli cerebellari anteriori sembra essere l'elemento che più di tutti contribuisce ai disturbi dell'equilibrio nei pazienti con SM. È molto importante avere metodiche (come il recentemente implementato SUIter) che consentano una localizzazione anatomica precisa del danno cerebellare, in modo tale da capire quali sono gli specifici lobuli cerebellari implicati nei disturbi dell'equilibrio in soggetti con SM e ampliare l'attuale conoscenza sulla fisiopatologia del cervelletto.

## FIGURE

---

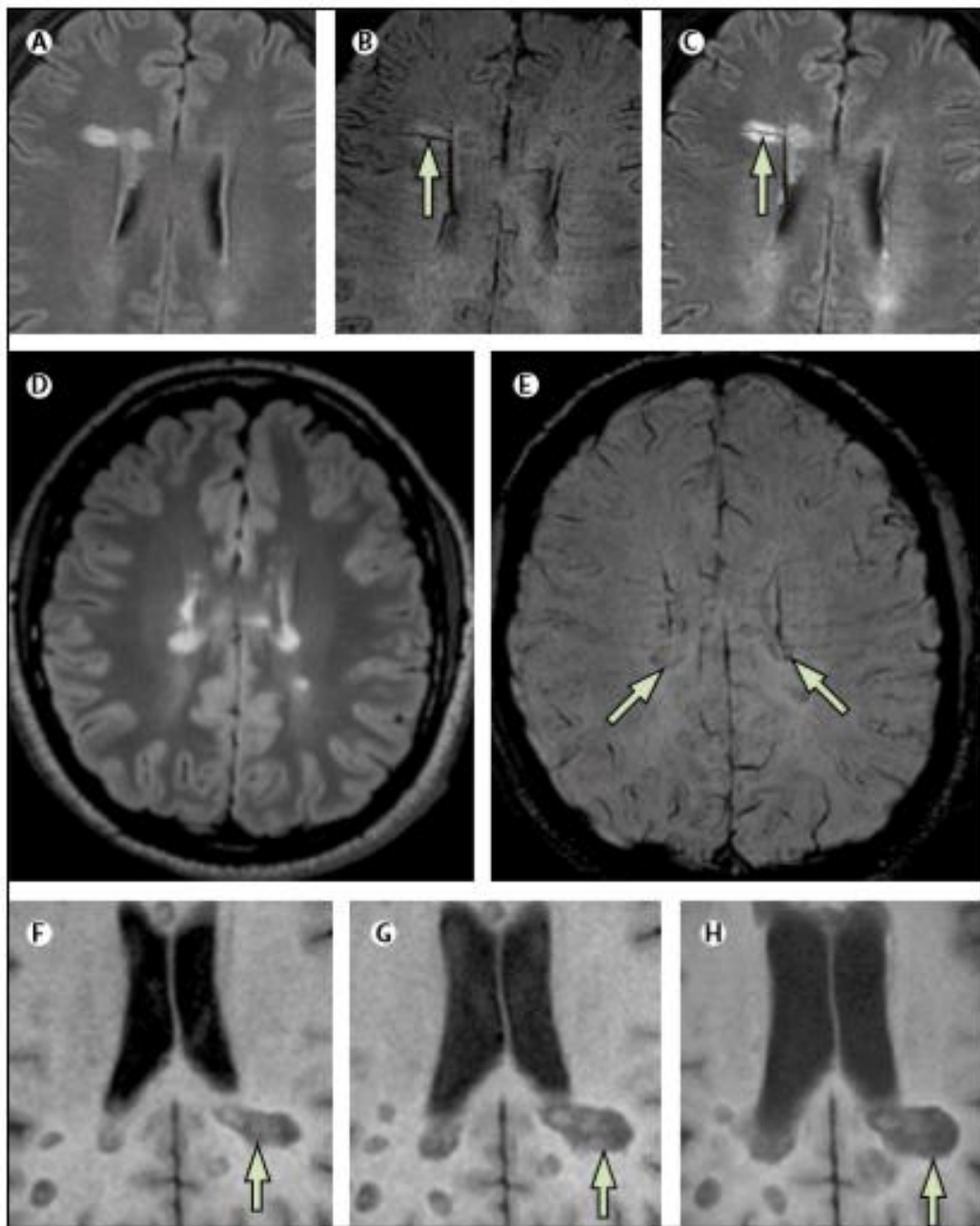


Figura 1: Lesioni della sostanza bianca in risonanza magnetica 3 Tesla in pazienti con SM, sezioni assiali (7).

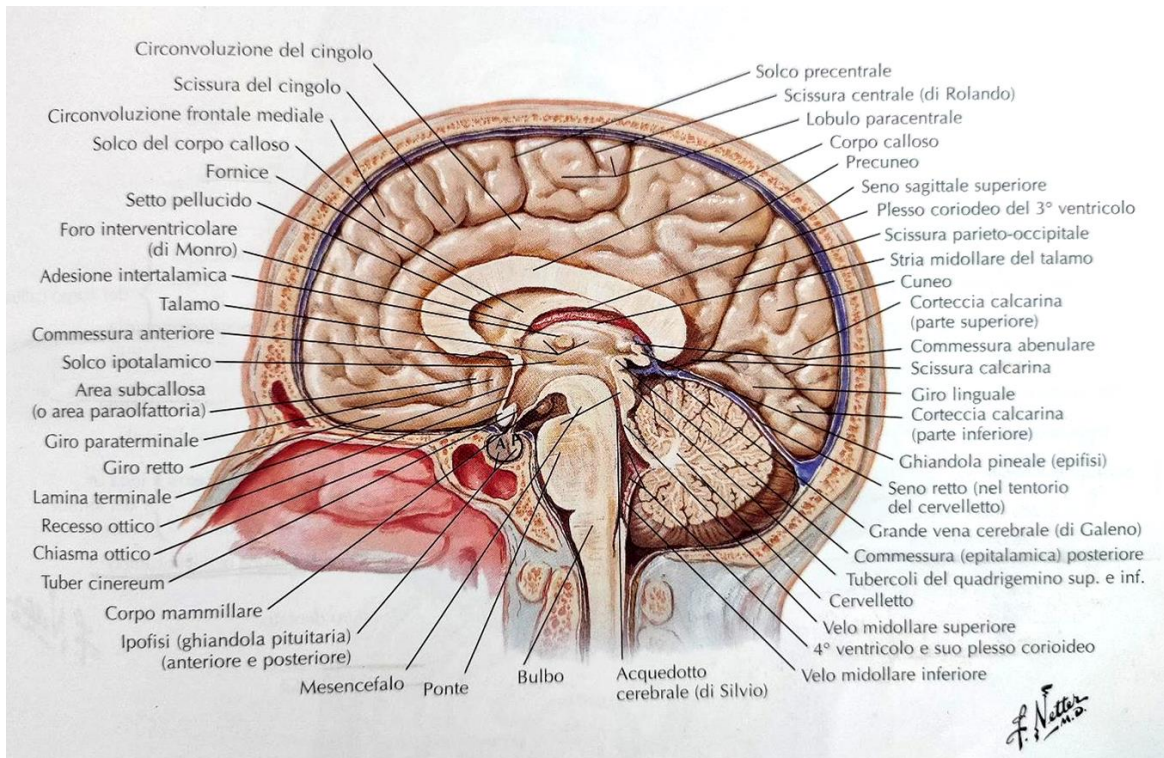


Figura 2: superficie medio-sagittale dell'encefalo in situ. Si apprezzano i rapporti anatomici del cervelletto, situato in fossa cranica posteriore (19).

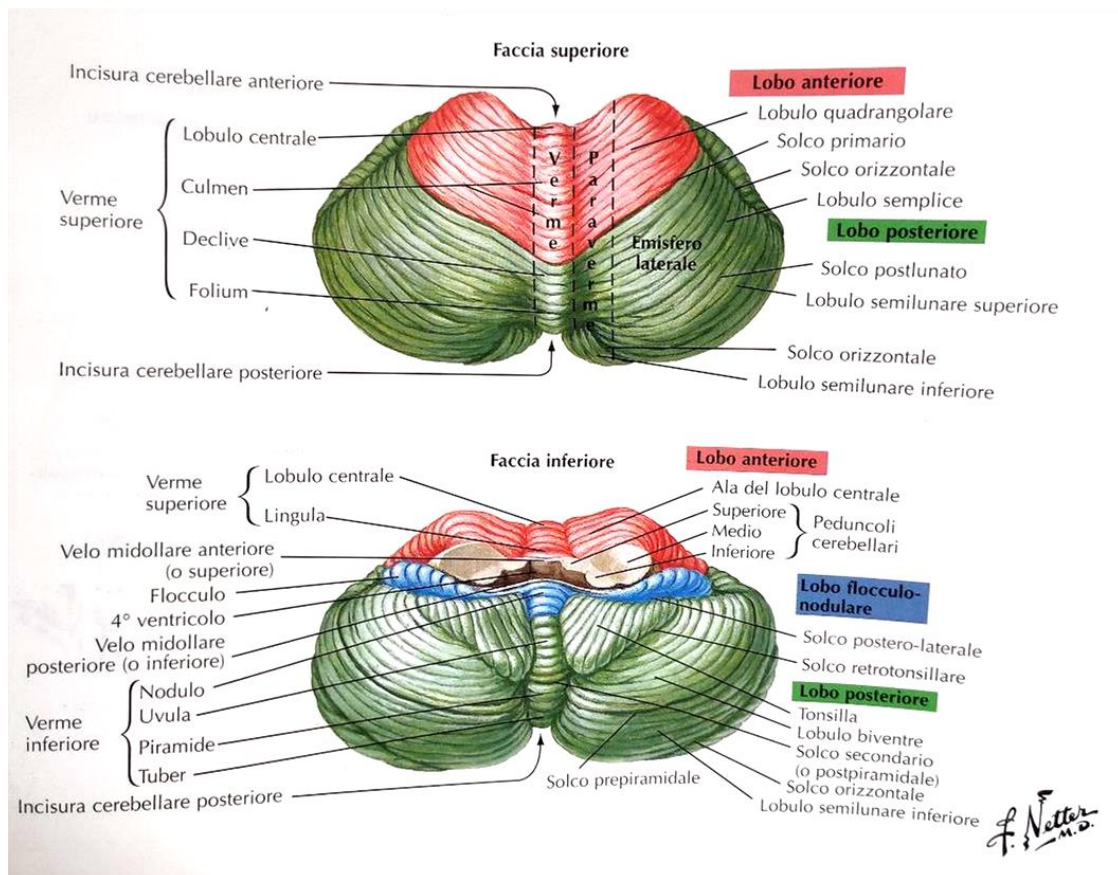


Figura 3: anatomia del cervelletto (veduta esterna) (19).



**TABLE 1**

Relationship of the Fissures to the Cerebellar Lobules in the Vermis and Hemispheres

VERMIS Lobule I,II	FISSURE	HEMISPHERE Lobule I,II
	Precentral	
III	Preculminate	III
IV	Intraculminate	IV
V	Primary	V
VI	Superior Posterior	VI
VIIAf	Horizontal	Crus I
VIIAt	Ansoparamedian	Crus II
VIIIB	Prepyramidal/Prebiventer	VIIIB
VIIIA	Intrabiventer	VIIIA
VIIIB	Secondary	VIIIB
IX	Posterolateral	IX
X		X

Figura 4: relazione tra le fessure dei lobuli cerebellari nel verme e negli emisferi del cervelletto (17).

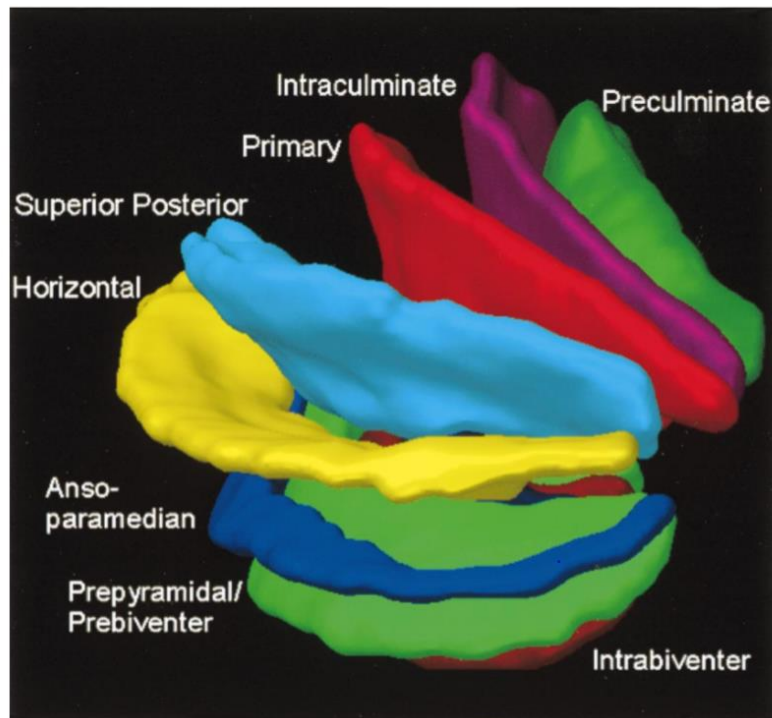


Figura 5: visione laterale destra delle fessure cerebellari a volume cerebellare rimosso (17).

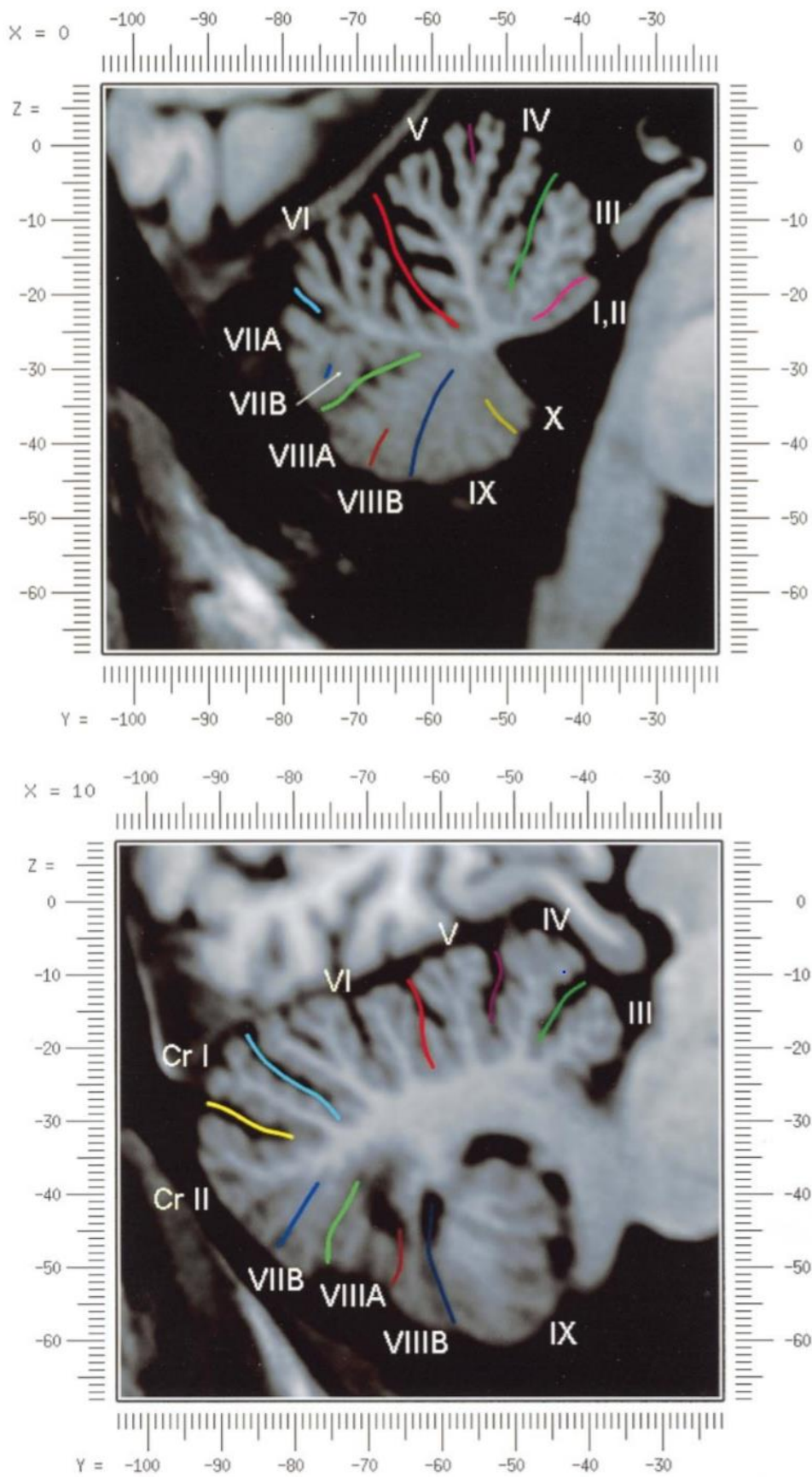


Figura 6: immagini di RM del cervelletto che evidenzia le fessure tra i lobuli con gli stessi colori delle fessure presentati in Figura 4 (17).

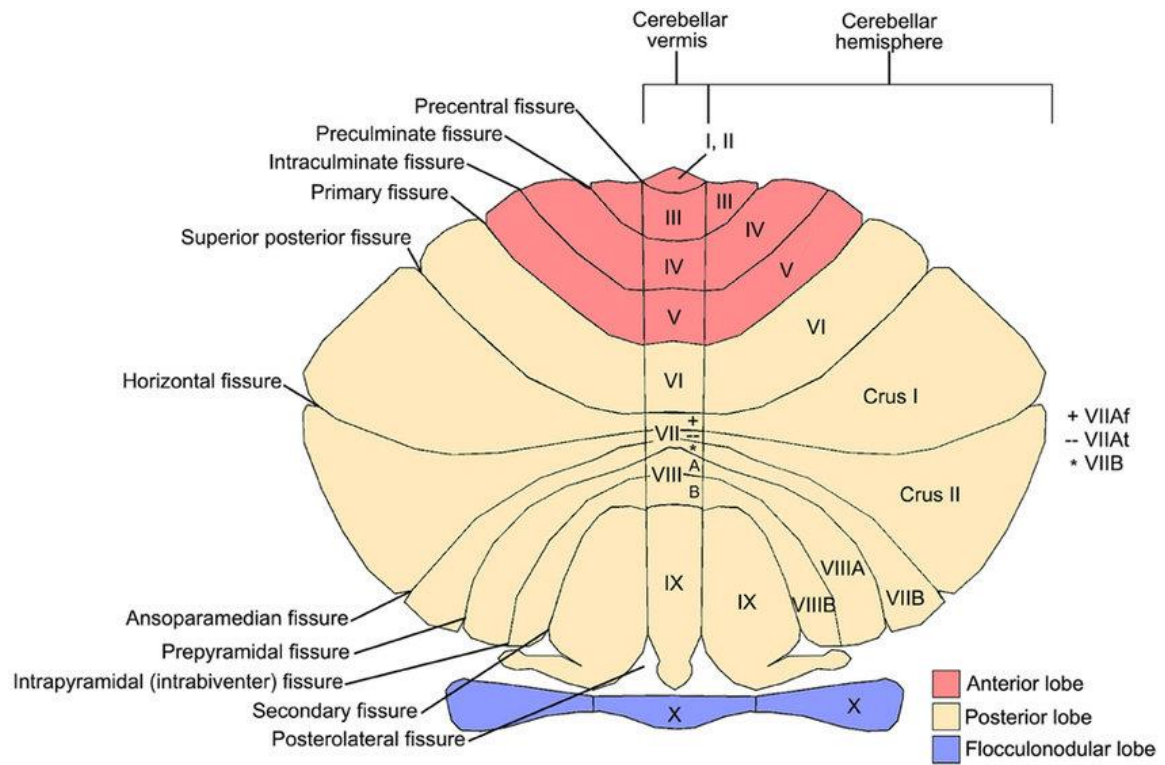


Figura 7: lobuli cerebellari (50)

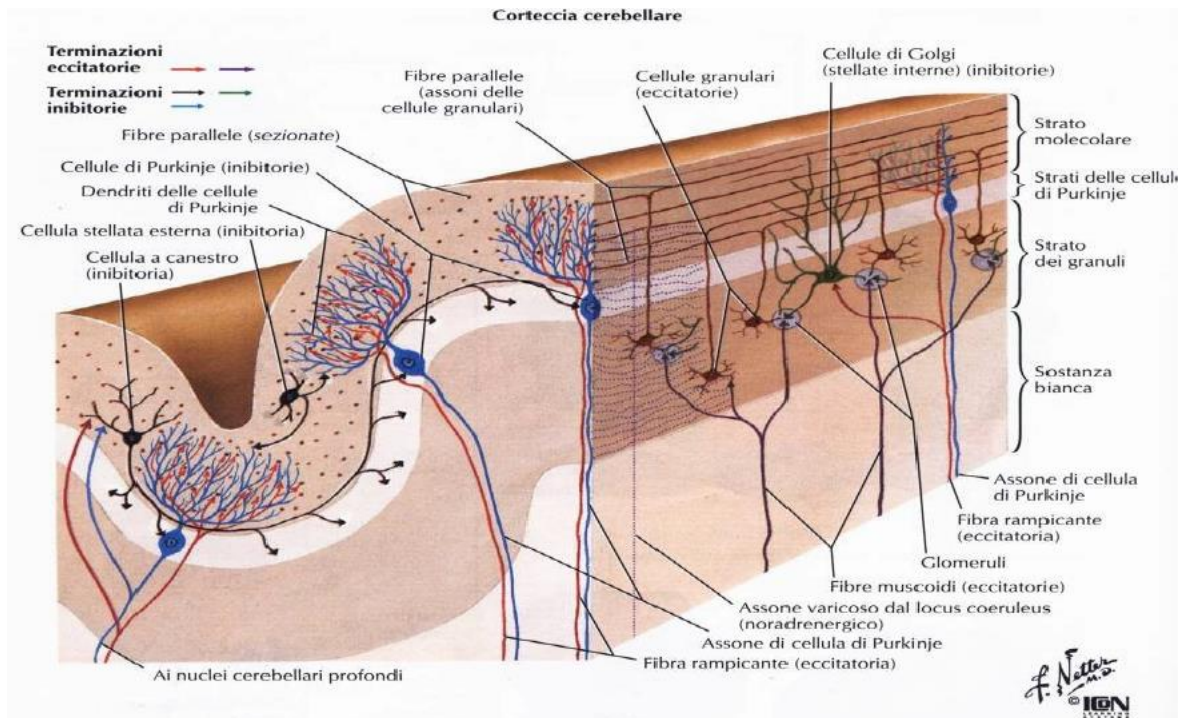


Figura 8: corteccia cerebellare (19).

Expanded Disability Status Score (EDSS) di Kurtzke	
0,0 =	Esame neurologico normale [punteggio 0 per tutti i sistemi funzionali (SF)]
1,0 =	Nessuna disabilità, segni minimi in 1 SF (cioè grado 1)
1,5 =	Nessuna disabilità, segni minimi in 2 SF (più che grado 1)
2,0 =	Disabilità minima in 1 SF (un SF grado 2, altri 0 o 1)
2,5 =	Disabilità minima in 2 SF (due SF grado 2, altri 0 o 1)
3,0 =	Disabilità moderata in 1 SF (un SF grado 3, altri 0 o 1); oppure disabilità lieve in tre o quattro SF (tre/quattro SF grado 2, altri 0 o 1), benché totalmente in grado di camminare
3,5 =	In grado di camminare, ma con disabilità moderata in 1 SF (un grado 3) e grado 2 in uno o due SF; oppure grado 3 in due SF; oppure grado 2 in cinque SF
4,0 =	In grado di camminare senza aiuto o percorrere almeno 500 m
4,5 =	In grado di camminare senza aiuto o percorrere almeno 300 m
5,0 =	In grado di camminare senza aiuto o percorrere almeno 200 m
5,5 =	In grado di camminare senza aiuto o percorrere almeno 100 m
6,0 =	Necessità di assistenza per percorrere circa 100 m con o senza sosta
6,5 =	Assistenza bilaterale costante necessaria per percorrere circa 20 metri senza sosta
7,0 =	Non in grado di percorrere oltre 5 metri senza aiuto, essenzialmente costretto in carrozzella; in grado di azionare e sedersi su una normale carrozzella
7,5 =	In grado di fare solo pochi passi; costretto in carrozzella; potrebbe richiedere aiuto per i trasferimenti da/sulla carrozzella
8,0 =	Essenzialmente costretto a letto o in poltrona, può muoversi solo in carrozzella, può restare fuori dal letto la maggior parte della giornata; in grado di provvedere a numerose cure personali; in genere capace di utilizzare bene gli arti superiori
8,5 =	Essenzialmente costretto a letto per gran parte della giornata; mantiene una certa capacità di utilizzo di uno o ambedue gli arti superiori; in grado di provvedere ad alcune cure personali
9,0 =	Costretto a letto se non aiutato, in grado di comunicare e alimentarsi
9,5 =	Totalmente costretto a letto, non in grado di comunicare e alimentarsi
10,0 =	Morte per SM

Figura 9: Scala EDSS di Kurtzke (29) (10).

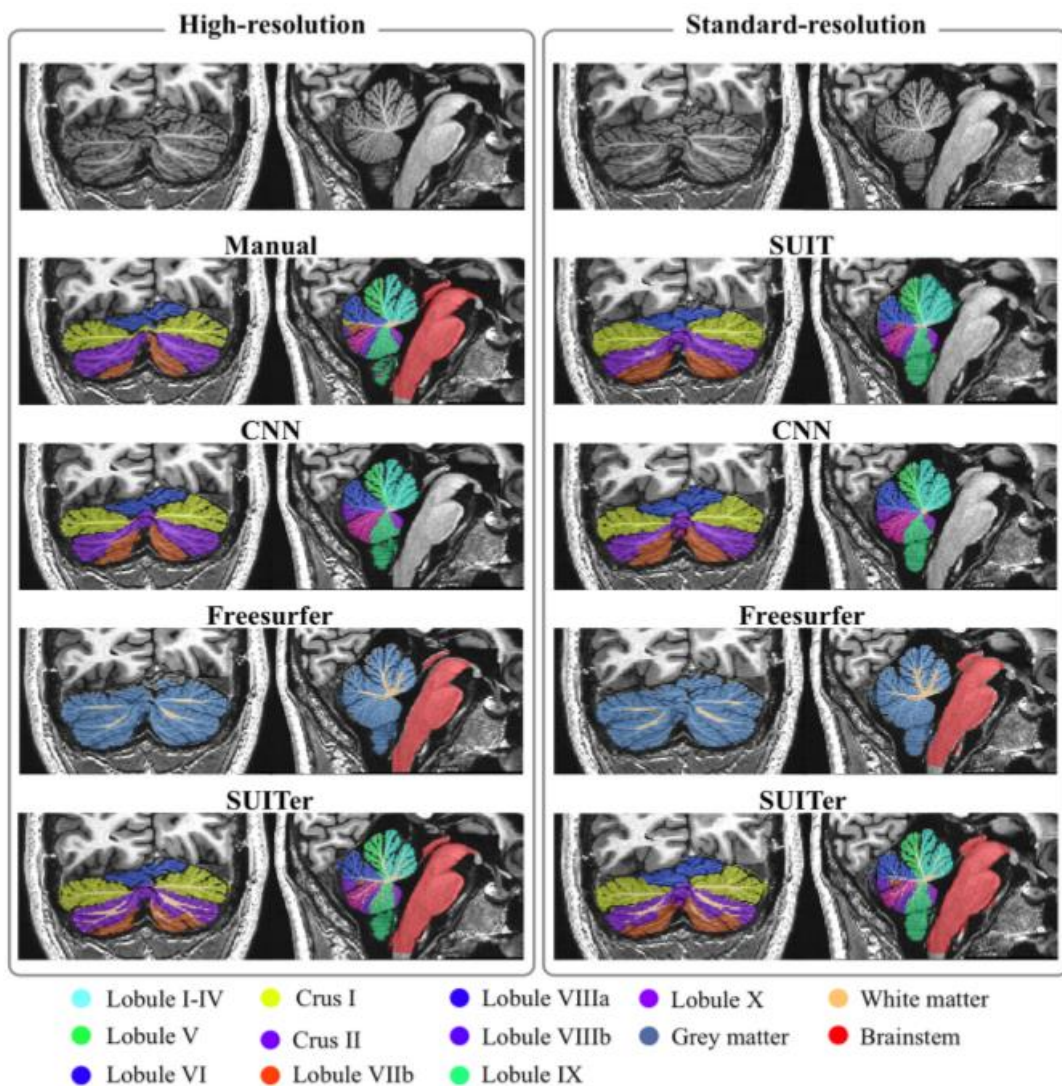


Figura 10: esempio di segmentazione dei lobuli cerebellari, della sostanza bianca cerebellare e delle strutture troncoencefaliche ottenuta tramite segmentazione manuale, CNN, FreeSurfer e SUITEr in risoluzione standard e in alta risoluzione (.7 and 1 mm isotropic resolutions), SUIT in risoluzione standard (39)

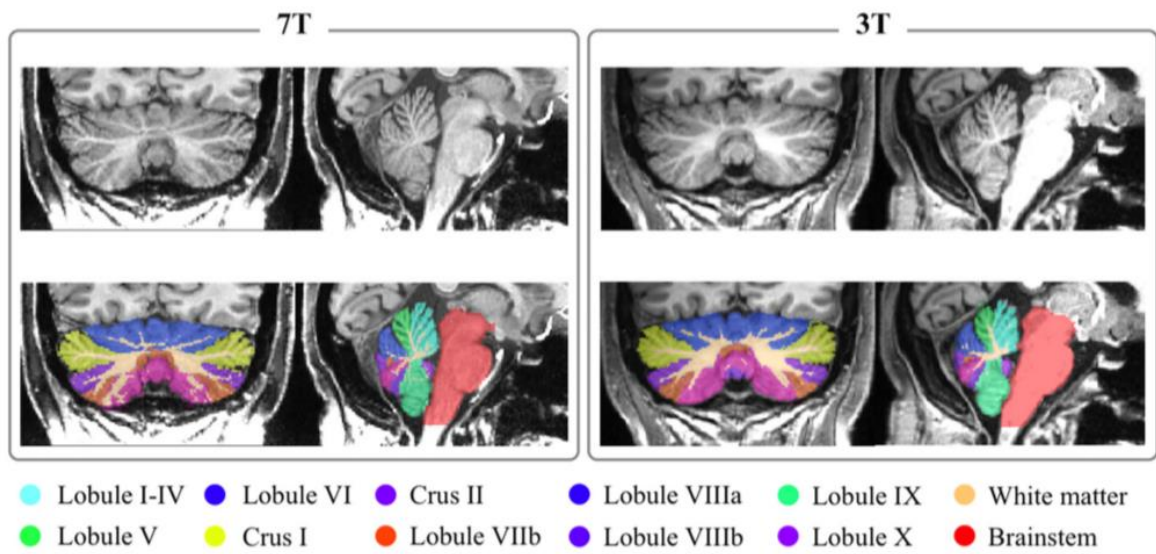


Figura 11: esempio di segmentazione dei lobuli cerebellari, sostanza bianca cerebellare e strutture tronco encefaliche ottenute tramite SUIter con MRI 3T e 7T sui dati di un paziente con SM (39).

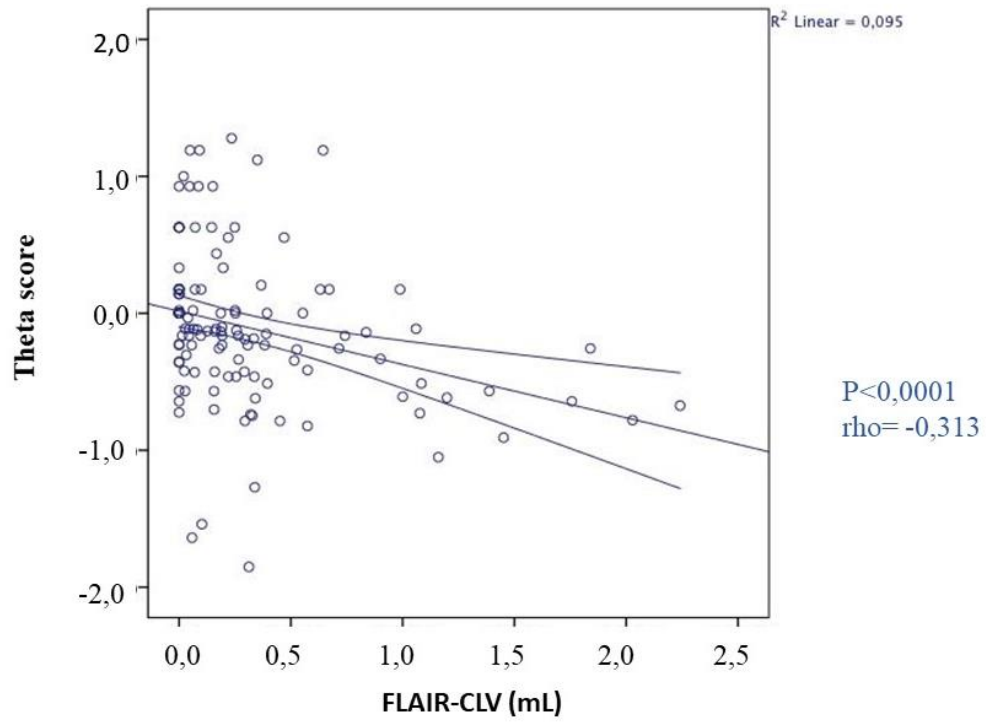


Figura 12: correlazione tra theta score e FLAIR-CLV

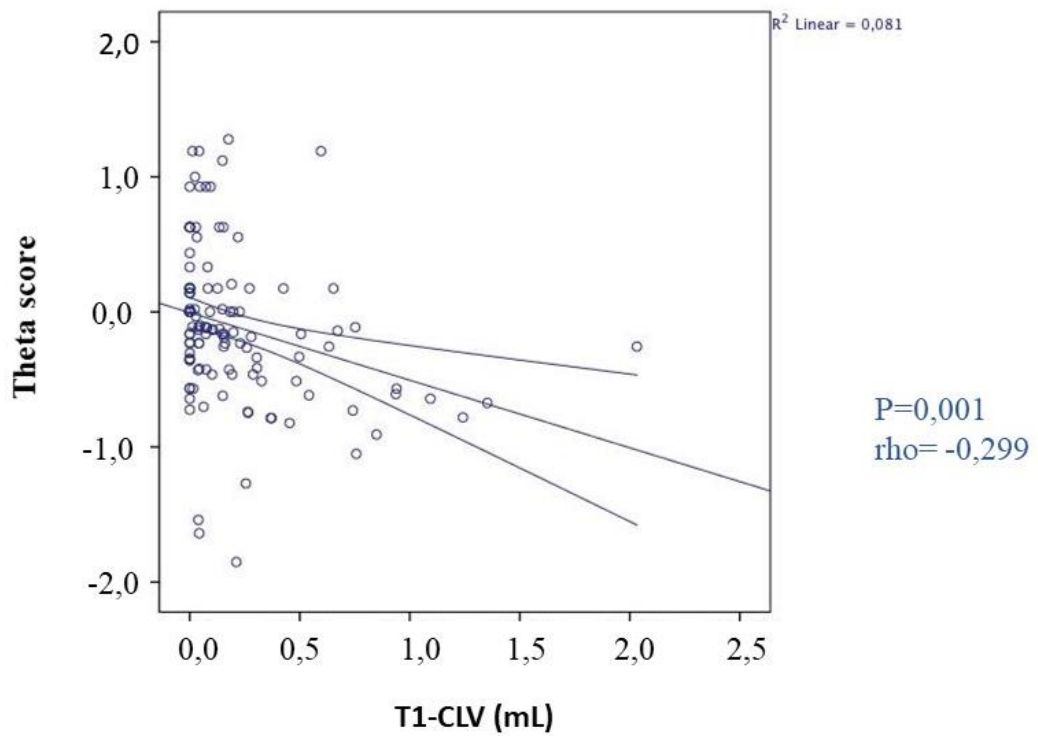


Figura 13: correlazione tra theta score e T1-CLV

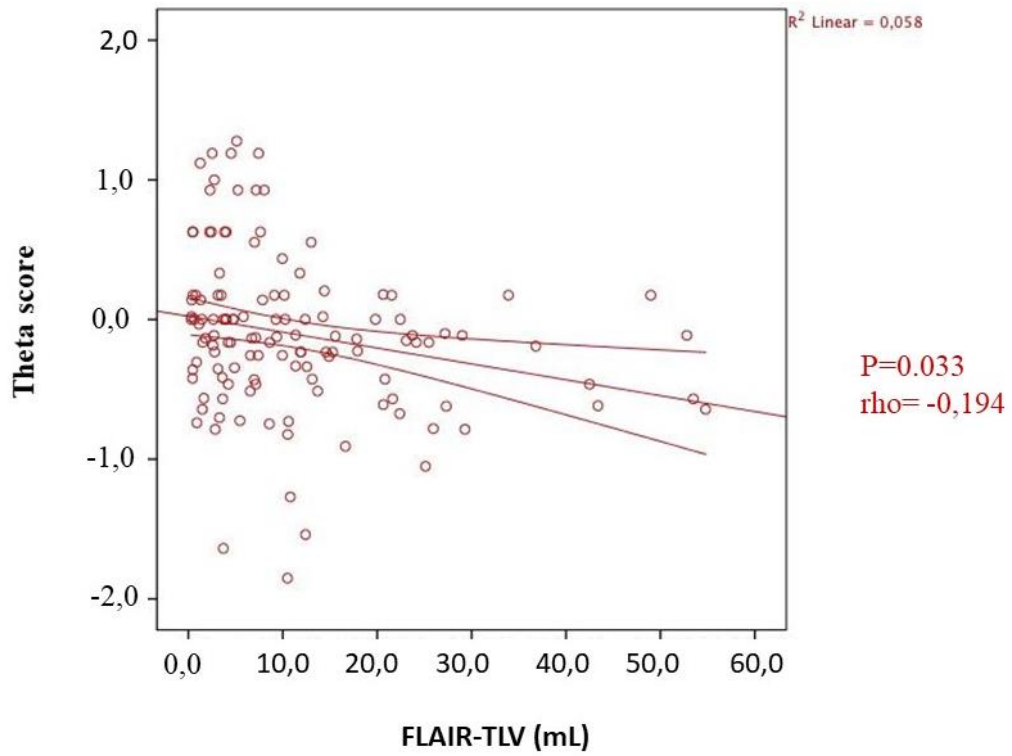


Figura 14: correlazione tra theta score e FLAIR-TLV

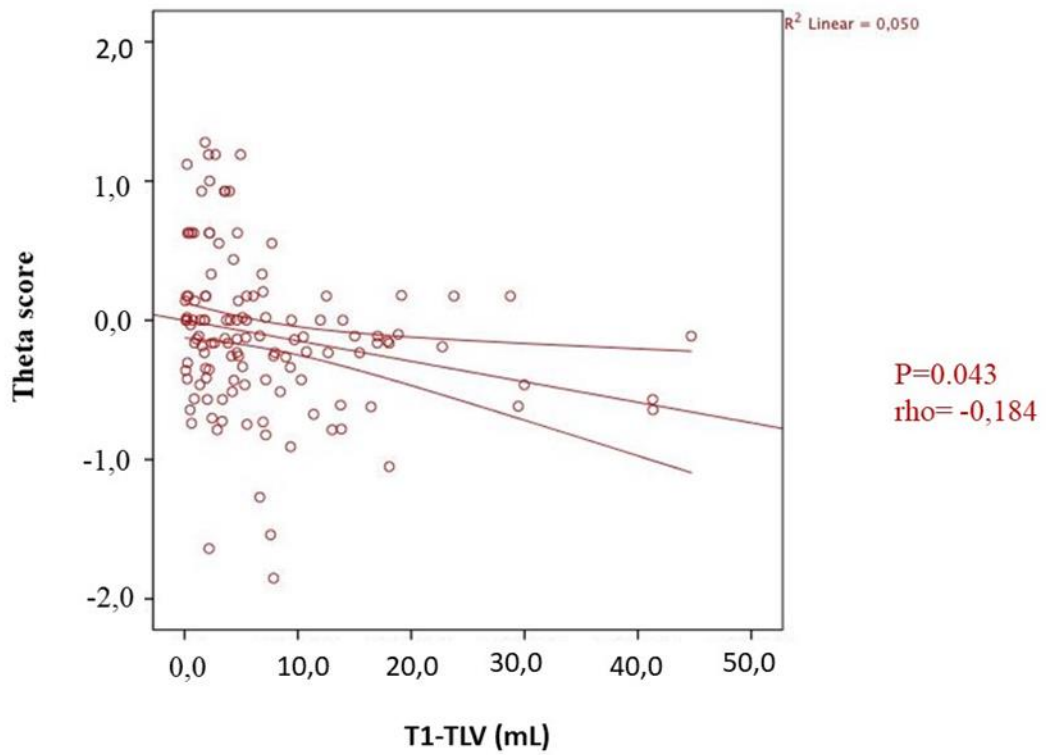


Figura 15: correlazione tra theta score e T1-TLV

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis. Longo DL, curatore. *N Engl J Med*. 11 gennaio 2018;378(2):169–80.
2. AISM (Associazione Italiana Sclerosi Multipla). Barometro della Sclerosi Multipla 2019.
3. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, Hemmer B, Ciccarelli O. Multiple sclerosis. *The Lancet*. aprile 2018;391(10130):1622–36.
4. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sorensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions. *Neurology*. 15 luglio 2014;83(3):278–86.
5. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet*. aprile 2017;389(10076):1336–46.
6. Filippi M, Preziosa P, Banwell BL, Barkhof F, Ciccarelli O, De Stefano N, et al. Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain*. 1 luglio 2019;142(7):1858–75.
7. Filippi M, Brück W, Chard D, Fazekas F, Geurts JJG, Enzinger C, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. febbraio 2019;18(2):198–210.
8. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. febbraio 2018;17(2):162–73.
9. W.B. Matthews et al. McAlpine's multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. ottobre 1991;
10. J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, Joseph Loscalzo. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Twentieth Edition. McGraw Hill Higher Education; 2018.
11. Parmar K, Stadelmann C, Rocca MA, Langdon D, D'Angelo E, D'Souza M, et al. The role of the cerebellum in multiple sclerosis—150 years after Charcot. *Neurosci Biobehav Rev*. giugno 2018;89:85–98.
12. Amato MP, Ponziani G. A prospective study on the prognosis of multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 23 dicembre 2000;21(0):S831–8.
13. Mormina E, Petracca M, Bommarito G, Piaggio N, Coccozza S, Inglese M. Cerebellum and neurodegenerative diseases: Beyond conventional magnetic resonance imaging. *World J Radiol*. 28 ottobre 2017;9(10):371–88.
14. Azevedo FAC, Carvalho LRB, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti REL, Leite REP, et al. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol*. 10 aprile 2009;513(5):532–41.



15. Kandel ER. Principles of neural science. 5° ed. 2013.
16. Larsell, O., Jansen, J. The comparative anatomy and histology of the cerebellum: the human cerebellum, cerebellar connections, and cerebellar cortex. University of Minnesota Press, Minneapolis; 1972.
17. Schmahmann JD, Doyon J, McDonald D, Holmes C, Lavoie K, Hurwitz AS, et al. Three-Dimensional MRI Atlas of the Human Cerebellum in Proportional Stereotaxic Space. *NeuroImage*. settembre 1999;10(3):233–60.
18. Fujita H, Sugihara I. Branching patterns of olivocerebellar axons in relation to the compartmental organization of the cerebellum. *Front Neural Circuits*. 2013;7.
19. David L. Felten, Anil N. Shetty. *Atlante di neuroscienze di Netter*. 2° ed. Elsevier; 2010.
20. Fiorenzo Conti. *Fisiologia Medica*. 2° ed. 2010.
21. Koziol LF, Budding D, Andreasen N, D'Arrigo S, Bulgheroni S, Imamizu H, et al. Consensus Paper: The Cerebellum's Role in Movement and Cognition. *The Cerebellum*. febbraio 2014;13(1):151–77.
22. Prosperini L, Sbardella E, Raz E, Cercignani M, Tona F, Bozzali M, et al. Multiple Sclerosis: White and Gray Matter Damage Associated with Balance Deficit Detected at Static Posturography. *Radiology*. luglio 2013;268(1):181–9.
23. Kutzelnigg A, Faber-Rod JC, Bauer J, Lucchinetti CF, Sorensen PS, Laursen H, et al. Widespread Demyelination in the Cerebellar Cortex in Multiple Sclerosis. *Brain Pathol*. gennaio 2007;17(1):38–44.
24. Gilmore CP, Donaldson I, Bo L, Owens T, Lowe J, Evangelou N. Regional variations in the extent and pattern of grey matter demyelination in multiple sclerosis: a comparison between the cerebral cortex, cerebellar cortex, deep grey matter nuclei and the spinal cord. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 febbraio 2009;80(2):182–7.
25. Weinshenker BG. Long-term and Short-term Outcome of Multiple Sclerosis: A 3-Year Follow-up Study. *Arch Neurol*. 1 aprile 1996;53(4):353.
26. Tornes L, Conway B, Sheremata W. Multiple Sclerosis and the Cerebellum. *Neurol Clin*. novembre 2014;32(4):957–77.
27. Feinstein A, Freeman J, Lo AC. Treatment of progressive multiple sclerosis: what works, what does not, and what is needed. *Lancet Neurol*. febbraio 2015;14(2):194–207.
28. Tintore M, Otero-Romero S, Río J, Arrambide G, Pujal B, Tur C, et al. Contribution of the symptomatic lesion in establishing MS diagnosis and prognosis. *Neurology*. 27 settembre 2016;87(13):1368–74.
29. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1 novembre 1983;33(11):1444–1444.

30. Kappos L. Neurostatus Scoring. University Hospital Basel, Switzerland; 2011.
31. Cutter GR. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain*. 1 maggio 1999;122(5):871–82.
32. Goodkin DE, Cookfair D, Wende K, Bourdette D, Pullicino P, Scherokman B, et al. Inter- and intrarater scoring agreement using grades 1.0 to 3.5 of the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology*. 1 aprile 1992;42(4):859–859.
33. Meyer-Moock S, Feng Y-S, Maeurer M, Dippel F-W, Kohlmann T. Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. *BMC Neurol*. dicembre 2014;14(1):58.
34. Jerry Slotkin PhD, Michael Kallen PhD, James Griffith PhD, Susan Magasi PhD, John. NIH Toolbox Technical Manual. 2012.
35. National Institutes of Health and Northwestern University. NIH Toolbox Scoring and Interpretation Guide for the iPad. 2016.
36. Brandstadter R, Ayeni O, Krieger SC, Harel NY, Escalon MX, Katz Sand I, et al. Detection of subtle gait disturbance and future fall risk in early multiple sclerosis. *Neurology*. 26 febbraio 2020;
37. De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, Mattle HP, O’Riordan J, Oreja-Guevara C, et al. Clinical Relevance of Brain Volume Measures in Multiple Sclerosis. *CNS Drugs*. febbraio 2014;28(2):147–56.
38. Forn C, Rocca M, Valsasina P, Boscá I, Casanova B, Sanjuan A, et al. Functional magnetic resonance imaging correlates of cognitive performance in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis at presentation: an activation and connectivity study. *Mult Scler J*. febbraio 2012;18(2):153–63.
39. El Mendili MM, Petracca M, Podranski K, Fleyscher L, Cocozza S, Inglese M. SUITER: An Automated Method for Improving Segmentation of Infratentorial Structures at Ultra-High-Field MRI. *J Neuroimaging*. gennaio 2020;30(1):28–39.
40. D’Ambrosio A, Pagani E, Riccitelli GC, Colombo B, Rodegher M, Falini A, et al. Cerebellar contribution to motor and cognitive performance in multiple sclerosis: An MRI sub-regional volumetric analysis. *Mult Scler J*. agosto 2017;23(9):1194–203.
41. Mesaros S, Rovaris M, Pagani E, Pulizzi A, Caputo D, Ghezzi A, et al. A Magnetic Resonance Imaging Voxel-Based Morphometry Study of Regional Gray Matter Atrophy in Patients With Benign Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*. 1 settembre 2008;65(9).
42. Cocozza S, Petracca M, Mormina E, Buyukturkoglu K, Podranski K, Heinig MM, et al. Cerebellar lobule atrophy and disability in progressive MS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88(12):1065–72.

43. Coccozza S, Pontillo G, Russo C, Russo CV, Costabile T, Pepe A, et al. Cerebellum and cognition in progressive MS patients: functional changes beyond atrophy? *J Neurol.* ottobre 2018;265(10):2260–6.
44. Prosperini L, Kouleridou A, Petsas N, Leonardi L, Tona F, Pantano P, et al. The relationship between infratentorial lesions, balance deficit and accidental falls in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* maggio 2011;304(1–2):55–60.
45. Weier K, Penner IK, Magon S, Amann M, Naegelin Y, Andelova M, et al. Cerebellar Abnormalities Contribute to Disability Including Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis. Bruce A, curatore. *PLoS ONE.* 22 gennaio 2014;9(1).
46. Weier K, Eshaghi A, Magon S, Andelova M, Radue E-W, Kappos L, et al. The role of cerebellar abnormalities in neuromyelitis optica – a comparison with multiple sclerosis and healthy controls. *Mult Scler J.* maggio 2015;21(6):757–66.
47. Moroso A, Ruet A, Lamargue-Hamel D, Munsch F, Deloire M, Coupé P, et al. Posterior lobules of the cerebellum and information processing speed at various stages of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* febbraio 2017;88(2):146–51.
48. Inglese M, Petracca M, Mormina E, Achiron A, Straus-Farber R, Miron S, et al. Cerebellar volume as imaging outcome in progressive multiple sclerosis. *PloS One.* 2017;12(4).
49. George IC, El Mendili MM, Inglese M, Azevedo CJ, Kantarci O, Lebrun C, et al. Cerebellar volume loss in radiologically isolated syndrome. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl.* novembre 2019;
50. D’Mello AM, Stoodley CJ. Cerebro-cerebellar circuits in autism spectrum disorder. *Front Neurosci.* 5 novembre 2015;9.

## RINGRAZIAMENTI

---

Ringrazio moltissimo la Prof.ssa Matilde Inglese per avermi dato l'opportunità di seguire questo progetto di tesi, con il quale ho potuto affacciarmi al mondo della ricerca e approfondire alcuni argomenti che mi appassionano da sempre.

Non riuscirò mai a ringraziare pienamente il dott. Giacomo Boffa e la dott.ssa Caterina Lapucci, che mi hanno aiutato costantemente e si sono mostrati sempre gentili e disponibili nei miei confronti. L'unico mio rammarico è non averli potuti seguire per più tempo nella loro attività di ambulatorio SM e nel laboratorio di risonanza causa Covid, ma, proprio per esserci ritrovati in questo momento complesso di pandemia, vorrei ringraziarli in modo particolare per essere rimasti per me punti di riferimento pronti a darmi preziosi consigli. Un ringraziamento speciale a Giacomo che mi ha insegnato davvero tantissime cose dal primo giorno in cui l'ho seguito in ambulatorio.

Ringrazio l'ingegnere Matteo Moro e la matematica Simona Schiavi, senza i quali non sarebbe stato possibile districarsi nella complessità delle analisi e dei software necessari per il lavoro sulle risonanze.

Ringrazio inoltre tutti gli specializzandi di Neurologia, in particolare la dott.ssa Maria Cellerino, e le persone che ho incontrato durante l'attività di tesi nel laboratorio di Neuroimaging, per la loro cordialità e disponibilità.

Ringrazio Amedeo, con il quale un po' per caso ci siamo ritrovati a condividere parte del lavoro di tesi, per la sua simpatia e schiettezza, perché ci siamo fatti tante risate e confrontati molto.

Ringrazio i miei compagni di corso e amici Francesco, Marina, Jenny, Elisa, Federico, Maria, Caterina, Alessia, Isabella, Luca e tutti gli altri, senza i quali questo lungo percorso universitario non sarebbe stato lo stesso, con la speranza che le nostre strade rimangano intrecciate ancora a lungo e che ognuno di noi riesca a realizzare i propri sogni di carriera e di vita.

Ringrazio i miei amici Giada, Marco, Matilde, Martino, Francesca, Davide, Chiara, Federico, Clarissa, Yara e tutti gli altri, che si sono sempre interessati alle mie scelte universitarie (e non solo) sostenendomi nei momenti più critici e con i quali ho passato momenti indimenticabili in questi anni di studi.

Ringrazio Massimo, per l'allegria e la tranquillità portata in famiglia e ringrazio anche Luca per aver condiviso momenti di quotidianità.

Ringrazio Velia, sempre sorridente e disponibile nei miei confronti e Mattias, con la speranza di passare più tempo insieme (in qualsiasi parte di mondo ognuno di noi si troverà).

Ringrazio Matteo, che ascolta con la costanza dell'amore le mie narrazioni quotidiane, con te questi anni sono stati i migliori che potessi desiderare.

Ringrazio mia nonna Ines, presenza costante nella mia vita che con grande carattere è al mio fianco da quando ero in fasce e ora mi vede giungere a un primo grande giro di boa.

Ringrazio anche (simbolicamente ma con affetto sincero) i miei nonni Piero e Lino e mia nonna Claudia, che immagino essere orgogliosi dal Cielo per questo momento per me importante.

Ringrazio mio fratello Lorenzo e i miei cugini Alice e Marco per tutto, per esserci sempre.

Ringrazio anche la mia piccola sorellina Cecilia, che rimane sempre stupita a pensare di avere una sorella già così "grande".

Vorrei ringraziare infine i miei genitori, senza i quali questo lungo percorso non sarebbe mai stato possibile, per avermi sempre sostenuto e per non avermi mai fatto mancare niente.

Ringrazio mio papà, per avermi accompagnato nel più improbabile viaggio di inizio percorso nel lontano 2014 e per avermi parlato fin da quando ero bambina di Scienza.

Ringrazio mia mamma, per avermi incoraggiato a intraprendere la strada per diventare medico e per avermi trasmesso la dedizione e l'amore per la lettura e lo studio.

Nella speranza di dare sempre il meglio di me nella delicata e complessa professione che mi accingo a intraprendere,

*Sara*

*Genova, luglio 2020*