



Università di Genova

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

Corso di laurea in Medicina e Chirurgia

Tesi di laurea

***BIOMARKERS SIERICI E SALIVARI NELLA
SCLEROSI MULTIPLA: UN NUOVO MODO DI
OSSERVARE GLI EFFETTI RIABILITATIVI***

Relatore: Prof. A. Schenone

Correlatrice: Dott.ssa Valeria Prada

Candidata: Elisa Piccardo

Anno accademico 2021/2022

INDICE

IntroduzionePag.4

Capitolo 1. La Sclerosi MultiplaPag.7

1.1 Generalità sulla Sclerosi MultiplaPag.7

1.1.1 IntroduzionePag.7

1.1.2 EpidemiologiaPag.8

1.1.3 EziopatogenesiPag.10

1.1.4 NeuropatologiaPag.13

1.1.5 Demielinizzazione e conduzione nervosaPag.14

1.1.6 SintomatologiaPag.15

1.1.7 DecorsoPag.22

1.1.8 DiagnosiPag.23

1.2 Misure di outcomePag.26

1.2.1 Scale di valutazionePag.26

1.2.2 Biomarcatori sierici e salivariPag.30

1.2.3 Risonanza magneticaPag.32

Capitolo 2. Presentazione dello studio	Pag.34
2.1 Scopo dello studio	Pag.34
2.2 Materiali e metodi	Pag.35
2.2.1 Selezione dei soggetti	Pag.35
2.2.2 Disegno dello studio	Pag.35
2.2.3 Valutazione clinica	Pag.37
2.2.4 Analisi sierologiche e salivari	Pag.37
2.2.5 Protocolli di trattamento	Pag.40
2.2.6 Analisi e gestione dei dati	Pag.41
Capitolo 3. Risultati	Pag.42
Capitolo 4. Discussione e conclusioni	Pag.48
Allegati	Pag.52
Allegato A – Scale di valutazione	Pag.52
Allegato B – Protocolli di trattamento	Pag.66
Bibliografia	Pag.74
Ringraziamenti	Pag.78

INTRODUZIONE

La sclerosi multipla (SM) è una patologia infiammatoria e degenerativa cronica del sistema nervoso centrale (SNC) di probabile eziologia autoimmune. Diversi studi ipotizzano che la SM sia causata dall'attivazione di linfociti T CD4+ autoreattivi periferici che migrano nel SNC e iniziano il processo patologico. Questa è chiamata ipotesi "outside-in" in contrapposizione all'ipotesi "inside-out" secondo la quale l'evento iniziale sarebbe localizzato all'interno del SNC (Malpass K et al., 2012).

A causa della disregolazione delle cellule del sistema immunitario l'equilibrio fra citochine proinfiammatorie (IL-6, IL-17, INF- γ , TNF- α , IL-1 e PCR) e citochine antinfiammatorie (IL-10, IL-4, IL-5, IL-14) diminuisce, portando a una preponderanza della componente proinfiammatoria, e l'attività Th1 aumenta provocando le reazioni a cascata responsabili del danneggiamento delle cellule coinvolte e la formazione delle lesioni o placche, mentre successivamente risultano fondamentali i meccanismi di risoluzione completa o parziale del danno.

Nelle persone con SM l'intervento riabilitativo è fondamentale e riconosciuto dalla comunità scientifica come utile nel migliorare la qualità della vita, la funzionalità motoria e cognitiva del paziente. Per questo motivo diventa importante trovare strumenti valutativi validi nel monitorare i progressi del paziente. Negli ultimi anni numerosi studi si sono pertanto concentrati sull'identificazione e sulla validazione di biomarcatori che possano essere esaminati in aggiunta alle valutazioni cliniche e strumentali comunemente utilizzate.

Solo pochi biomarcatori molecolari sono stati finora utilizzati di routine nella pratica clinica poiché la loro validazione richiede molto tempo (Ziemssen T

et al. 2019), tuttavia il numero di potenziali biomarcatori nelle diverse fasi dei test è promettente.

Tra questi annoveriamo il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF), i neurofilamenti (NFL) e l'interleuchina-6 (IL-6).

Il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF) appartiene a una famiglia di neurotrofine che hanno un ruolo cruciale nella sopravvivenza e nella differenziazione delle popolazioni neuronali (Huang EJ, Reichardt LF, 2001). Diversi lavori suggeriscono che i livelli sierici di BDNF nei pazienti con ictus, lesioni cerebrali e SM possano aumentare notevolmente dopo la riabilitazione/fisioterapia e possano essere utili per identificare la migliore strategia riabilitativa (Ozkul C et al., 2018). BDNF si trova anche nella saliva, (Saruta J et al., 2010; Kikuchi T et al., 2020) ma a nostra conoscenza non è ancora stato misurato in pazienti con SM, inoltre ad oggi non ci sono prove che sia correlato a misure di outcome come EDSS, Berg, qualità della vita o altre misure funzionali attualmente utilizzate nella valutazione dei pazienti con SM.

I neurofilamenti (NFL) sono eteropolimeri neuronali assemblati a partire da cinque diversi filamenti intermedi in diverse combinazioni e concentrazioni a seconda del tipo di neurone, della posizione nell'assone e dello stadio di sviluppo (Yuan A et al., 2017). Si pensa che il turnover fisiologico e i meccanismi di danno neuronale rendano i neurofilamenti misurabili dapprima nel liquido cefalorachidiano e poi nel siero sanguigno. Nello specifico, la variazione percentuale di NFL sembra fortemente associata all'accumulo di lesioni valutabili nelle immagini T1 e T2 pesate (Srpova B et al., 2022) e questo fa sì che la loro misurazione nella pratica clinica possa essere presa in considerazione come uno strumento utile al monitoraggio seriale dell'attività di malattia subclinica.

IL-6 è una interleuchina proinfiammatoria che viene studiata per il suo ruolo nella patogenesi della SM, ha funzioni pleiotropiche e media una serie di attività biologiche, tra cui la regolazione della risposta immunitaria. In particolare, promuove la differenziazione delle cellule T CD4+ naïve in

cellule T helper 17 e inibisce la differenziazione delle cellule T regolatorie (Treg) indotta dal fattore di crescita trasformante β (TGF- β) (Bettelli E et al., 2006; Mangan PR et al., 2006; Veldhoen M et al., 2006). La disregolazione di IL-6 potrebbe quindi alterare l'equilibrio Th17/Treg risultando determinante nella patogenesi del danno autoimmune (Kimura A e Kishimoto T, 2010). Diversi lavori hanno dimostrato che nella SM sono rilevati aumenti delle concentrazioni sieriche di IL-6, soprattutto nei pazienti con una durata di malattia più lunga (Stelmasiak Z et al., 2000).

CAPITOLO 1

LA SCLEROSI MULTIPLA

1.1 Generalità sulla Sclerosi Multipla

1.1.1 Introduzione

La Sclerosi Multipla (SM), chiamata anche sclerosi a placche, è una patologia del Sistema Nervoso Centrale a decorso cronico, che dopo i traumi cranici rappresenta la principale causa di disabilità neurologica in età giovanile- adulta (Favale E, 2003).

Il primo caso documentato di SM fu quello di Lidwina di Schiedam, vissuta in Olanda tra il 1380 e il 1433 e poi riconosciuta santa, che manifestò ricorrenti episodi di paralisi, perdita della sensibilità e soprattutto della vista, con un progressivo deterioramento delle sue condizioni di salute fino alla morte. Alcuni secoli dopo, nel 1868, Charcot ne descrisse gli aspetti clinici e neuropatologici in riferimento alle aree di demielinizzazione a carattere infiammatorio disseminate nel Sistema Nervoso Centrale e localizzate prevalentemente a livello della sostanza bianca periventricolare, del cervelletto, midollo spinale, nervi ottici, chiasma ottico e tronco encefalico.

Le cause sono ad oggi ancora sconosciute, ma in base alle numerose evidenze cliniche e sperimentali la SM viene considerata una patologia autoimmune secondaria a una risposta diretta contro un evento “trigger”, che determina una risposta anomala di linfociti T che sono sfuggiti al processo di selezione nel timo e risultano pertanto autoreattivi, capaci cioè di attaccare auto-antigeni mielinici.

Il decorso della patologia è variabile e imprevedibile, generalmente caratterizzato da episodi di sofferenza focale del Sistema Nervoso Centrale che inizialmente tendono a regredire, ma che in seguito sono responsabili di deficit neurologici non più reversibili.

1.1.2 Epidemiologia

Il numero stimato di persone con SM al mondo nel 2020 è di circa 2,8 milioni, con una nuova diagnosi ogni cinque minuti. Il Barometro europeo pubblicato dalla European MS Platform nel 2020 aggiorna il dato di prevalenza a 1,2 milioni di persone con SM nei 35 Paesi (inclusa la Federazione Russa) e di queste 133.000 solo in Italia.

Si tratta di una patologia che colpisce più frequentemente il sesso femminile, con un rapporto femmine/maschi pari circa a 2:1, variabile da 1,9 a 3,1. L'esordio avviene prevalentemente in età tra i 20 e i 40 anni, con un picco di incidenza intorno ai 30 anni, ma può verificarsi anche prima della pubertà (5% dei casi al di sotto dei 16 anni) (Sindern E et al., 1992) e dopo i 60 anni (0,5-1% dei casi) (Hooge JP, et al., 1992).

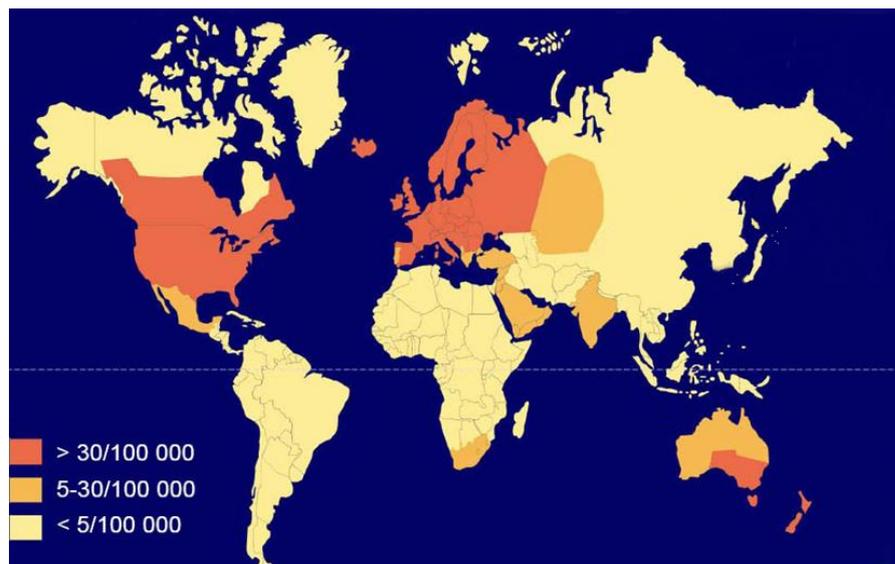


Figura 1.1

La SM è diffusa in tutto il mondo, ma risulta più frequente tra le popolazioni caucasiche. La prevalenza più alta è nelle Isole Orcadi, a nord del Regno Unito, mentre studi condotti in questi ultimi anni hanno inserito l'Italia tra i Paesi ad alto rischio di malattia, con una prevalenza di 265 casi su 100.000 in aree urbane rispetto ai 160 casi in aree rurali, evidenziando una forte associazione fra inquinamento e SM.

La maggior parte degli studi epidemiologici ha messo in luce una possibile relazione tra SM e latitudine, andando a identificare tre zone di frequenza (Figura 1.1):

- Zone ad alto rischio, che includono le regioni settentrionali degli USA e il Canada meridionale, l'Europa centro-settentrionale, l'Australia sud-orientale e la Nuova Zelanda;
- Zone a medio rischio, comprendenti alcune zone dell'Europa mediterranea, l'Arabia Saudita, le regioni meridionali degli USA, la popolazione bianca del sud Africa e, forse, gli stati centrali dell'America del sud;
- Zone a basso rischio, che includono Asia e Africa e, forse, gli stati settentrionali dell'America del sud e i paesi caraibici.

Pertanto, la patologia sembra frequente nelle regioni a clima temperato e meno comune nei tropici, nelle regioni sub-tropicali e nelle aree molto fredde. In base a questi dati è stata suggerita l'esistenza di fattori ambientali, con un gradiente di frequenza in rapporto al variare della latitudine, anche se tali conclusioni sono state messe in dubbio da recenti studi che hanno dimostrato un'associazione tra la distribuzione geografica e fattori genetici della popolazione. Un esempio è fornito dalla Sardegna, in cui la prevalenza più alta rispetto a tutto il territorio nazionale si associa con un particolare aplotipo del sistema maggiore di istocompatibilità (DR4). Nello stesso senso vanno interpretati i dati che rivelano una scarsa incidenza di malattia in popolazioni quali i Giapponesi, gli asiatici che vivono in Gran Bretagna, gli zingari di Ungheria, gli afroamericani degli USA, i maori della Nuova

Zelanda o gli africani del Sud Africa, tutti gruppi razziali che vivono in zone geograficamente definite ad alto rischio. Pertanto, le differenze osservate nella distribuzione geografica sono in gran parte dovute alle caratteristiche genetiche della popolazione, benché altri fattori, ad esempio ambientali, potrebbero giustificare la presenza di epidemie di SM.

Gli studi sulle popolazioni migranti hanno evidenziato che tali popolazioni tendono a conservare il rischio della zona di origine se la migrazione avviene dopo il 15° anno di età, mentre acquistano il rischio del nuovo paese di residenza se la migrazione avviene prima del 15° anno.

1.1.3 Eziopatogenesi

Benché la causa della SM risulti ancora oggi sconosciuta tutti gli studi effettuati sembrano indicare che essa si verifichi come risultato di una combinazione di fattori multipli di natura genetica, ambientale e immunologica che scatenano il processo di demielinizzazione delle fibre nervose del SNC.

Fattori genetici: l'ipotesi che la suscettibilità a contrarre la sclerosi multipla possa essere determinata geneticamente è stata avvalorata da numerose osservazioni, che hanno messo in evidenza come la patologia risulti avere una bassissima prevalenza in alcune razze, mentre in altre, in particolare quella caucasica, essa sia particolarmente frequente. Inoltre, benché la SM non sia considerata una malattia ereditaria, è stato dimostrato che un certo numero di variazioni genetiche possono aumentare il rischio di contrarre la malattia, che risulta più elevato nei parenti di una persona con SM rispetto alla popolazione generale, soprattutto nel caso di fratelli, genitori e figli. In questi casi si può ritenere che esista un rischio di circa l'1-3% di contrarre la malattia rispetto al rischio di 1/1000-2000 nella popolazione generale e che la patologia abbia un tasso complessivo di ricorrenza familiare pari al 20%. Nei gemelli monozigoti la concordanza per la presenza della malattia si verifica tra il 25 e il 30% dei casi, ma questa scende attorno al 5% nei fratelli ed è ancora più bassa nei fratellastri. Gli studi fino ad ora effettuati

sostengono l'ipotesi secondo cui non vi sia un unico gene responsabile dell'insorgenza della patologia, piuttosto la suscettibilità sarebbe determinata da molteplici loci indipendenti l'uno dall'altro, ciascuno dei quali contribuisce al rischio complessivo. In quest'ottica è stato riconosciuto come uno dei determinanti genetici della SM il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sul cromosoma 6, che codifica per gli antigeni di istocompatibilità (sistema HLA) che presentano gli antigeni proteici ai linfociti T. La SM è stata spesso correlata all'allele HLA-DR2: nella popolazione caucasica gli individui con tale aplotipo presentano un rischio circa 3-4 volte superiore di sviluppare la sclerosi multipla rispetto alla popolazione generale; in altre razze, tuttavia, essa è stata associata a differenti aplotipi HLA.

Agenti infettivi: la possibilità che alcuni fattori virali siano coinvolti nell'eziopatogenesi della sclerosi multipla era stata proposta già da Charcot alla fine dell'Ottocento e gli studi che sono stati condotti fino ad oggi tendono a confermare che possa esserci una relazione con patogeni di natura virale e non, ai quali malati di SM sarebbero stati esposti durante l'infanzia. In particolare, tra i molti agenti che sono stati oggetto di studio vi sono il virus del morbillo, l'Epstein Barr virus (EBV) (Mechelli R, et al., 2011), gli Herpes virus, alcuni retrovirus e recentemente la *Chlamydia pneumoniae*. Tale relazione sembra essere supportata anche da studi sperimentali effettuati sull'animale: è stato infatti possibile provocare in alcune specie animali una forma di encefalomielite demielinizzante cronica simile alla SM attraverso l'infezione con determinati ceppi virali.

In generale, sembra possibile che, in soggetti geneticamente predisposti, uno o più agenti infettivi siano in grado di provocare una risposta autoimmunitaria a seguito di un meccanismo di mimetismo molecolare: se l'organizzazione strutturale dell'agente infettivo risulta omologa a quella degli auto-antigeni mielinici esso, venendo a contatto con il sistema immunitario, verrà presentato ai linfociti T specifici che saranno attivati e stimolati a proliferare, innescando in questo modo una risposta immunitaria

diretta non solo contro il fattore esogeno, ma anche contro l'auto-antigene affine, in questo caso mielinico.

Fattori immunologici: i numerosi dati clinici e sperimentali supportano l'ipotesi che si tratti di una patologia infiammatoria a genesi autoimmune; la maggior parte di questi dati sono stati ricavati dagli studi sperimentali sull'encefalite allergica sperimentale (EAS), il modello animale della malattia (Yarom Y, et al., 1983): in conseguenza all'evento "trigger", che nel caso degli studi sull'animale è rappresentato dall'immunizzazione con proteine della mielina che inducono la malattia, i linfociti T CD4+ circolanti nel sangue periferico migrano attraverso la barriera ematoencefalica; all'interno del Sistema Nervoso Centrale i linfociti attivati riconoscono le proteine mieliniche "self" presentate da macrofagi e microglia attraverso il procedimento di mimetismo molecolare, già descritto. Il conseguente rilascio di citochine e chemochine proinfiammatorie produce una cascata di fenomeni immunologici che richiamano una seconda ondata di linfociti T nel sito dell'infiammazione, resa possibile da un aumento della permeabilità della barriera. Il risultato dell'attivazione dei meccanismi effettori è il danno a carico della guaina mielinica, degli oligodendrociti e in un secondo tempo anche dei neuroni. Il propagarsi o l'arresto di questa cascata autoimmune è in parte influenzato dal bilancio che si viene a instaurare tra i fattori proinfiammatori, quali l'interferone gamma (IFN- γ) e il tumor necrosis factor alfa (TNF- α), e i fattori antinfiammatori, quali l'interleuchina 4, l'interleuchina 10 e il transforming growth factor beta (TGF- β).

Fattori ambientali: si è già visto come la percentuale di soggetti affetti da SM vari in base alla latitudine del luogo di appartenenza, e in particolare come questa si riveli più frequente in luoghi lontani dall'equatore, seppure con numerose eccezioni. Alcuni ricercatori hanno perciò proposto l'ipotesi che possa esservi un collegamento tra una diminuita esposizione alla luce solare e un aumentato rischio di contrarre la patologia, che sarebbe provocato dalla diminuzione della produzione e dell'assorbimento di vitamina D, tuttavia al momento non ci sono sufficienti risultati che possano avvalorare tale teoria.

Altri studi hanno indagato circa un possibile ruolo di stress, fumo, esposizione professionale a tossine, vaccini, dieta e assunzione di ormoni, ma in tutti questi casi le prove sul loro rapporto con la patologia sono ancora scarse e poco concludenti.

1.1.4 Neuropatologia

La patologia è caratterizzata dalla presenza di numerose aree di demielinizzazione nella sostanza bianca, ovvero aree in cui la mielina è stata danneggiata, definite altresì placche, da cui l'appellativo di sclerosi a placche. Tali placche sono definite multifocali sia in senso spaziale che in senso temporale, poiché possono comparire in diverse aree del Sistema Nervoso Centrale e generalmente aumentano con il progredire del tempo. A un esame esterno il cervello non presenta alcuna alterazione riconducibile alla patologia, mentre è possibile riscontrare delle irregolarità nella superficie del midollo spinale; procedendo invece a una dissezione del cervello si evidenziano lesioni disseminate, di dimensioni che possono variare da frazioni di millimetro fino a qualche centimetro. Le placche più recenti, che vengono definite placche acute attive, hanno un colorito più roseo del tessuto circostante, una consistenza molle, contorni sfumati e si presentano edematose e infiammate; le placche di più antica data hanno un'aumentata consistenza, un colorito grigiastro e contorni ben delimitati. Dal punto di vista istologico tali aree di demielinizzazione sono caratterizzate da un variabile grado di infiltrazione cellulare, perdita di oligodendrociti e gliosi astrocitaria reattiva: le lesioni precoci presentano un infiltrato infiammatorio perivascolare formato da linfociti T, linfociti B e plasmacellule cui segue la comparsa di macrofagi che iniziano ad aggredire la guaina mielinica. Nelle fasi iniziali gli oligodendrociti possono dar luogo a un fenomeno di proliferazione che permette una parziale rimielinizzazione (placca ombra), ma con il passare del tempo essi e la mielina scompaiono dal centro della placca, gli astrociti procedono a formare tessuto cicatriziale e i macrofagi che hanno fagocitato i frammenti di mielina si dispongono in

sede periventricolare. Nelle fasi più tardive la placca diventa inattiva (placca cronica silente), rappresentata da una cicatrice nettamente definita, perdita pressoché completa di oligodendrociti, densa gliosi astrocitaria e modesti infiltrati infiammatori. Le lesioni conducono quindi alla degenerazione della mielina lasciando nella maggior parte dei casi intatto l'assone, soprattutto nella fase recidivante-remittente della malattia.

1.1.5 Demielinizzazione e conduzione nervosa

La mielina è formata da avvolgimenti concentrici della membrana plasmatica degli oligodendrociti attorno all'assone e ha il compito di isolare l'impulso nervoso che si propaga a partire dal corpo cellulare, impedendo all'onda di depolarizzazione di procedere in modo continuo lungo la membrana cellulare dell'assone stesso e determinandone il passaggio da un nodo di Ranvier al successivo con modalità saltatoria (Figura 1.2). È costituita per circa il 40% di acqua e per il 60% rimanente di componenti solidi, di cui fanno parte lipidi (79%), proteine (18%) e tracce di carboidrati.

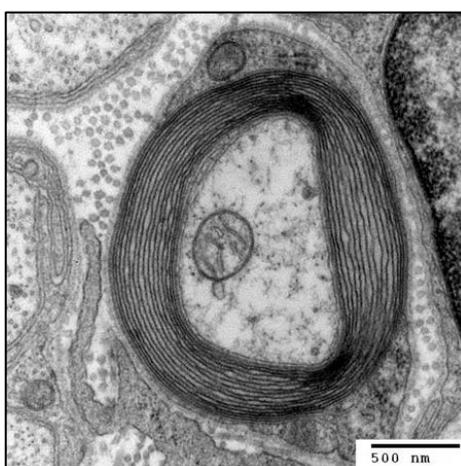


Figura 1.2

Nelle fibre demielinizzate la conduzione saltatoria non è più possibile e l'impulso procede lentamente, per propagazione continua: in un individuo sano la velocità di propagazione può arrivare a 100-150 m/sec, mentre in un individuo affetto da sclerosi multipla essa scende fino a 5 m/sec: questo

rallentamento della conduzione nervosa è responsabile della fatica, e il suo blocco della perdita della funzione. Gli assoni demielinizzati diventano sensibili a fattori ambientali quali l'aumento della temperatura, che peggiora la conduzione nervosa, e gli stimoli meccanici, che in alcuni casi possono determinare la comparsa di potenziali d'azione improvvisi dovuti, ad esempio, alla flessione del capo, come nel fenomeno di Lhermitte, e che in altri casi possono invece dar luogo a spasmi tonici secondari al movimento. Inoltre, lo stimolo elettrico può propagarsi agli assoni circostanti, con comparsa di fenomeni parossistici sensitivi o motori, quali la nevralgia trigeminale, le parestesie e le contrazioni muscolari toniche prolungate. Nelle fasi acute e iniziali della malattia gli infiltrati infiammatori, l'edema e la demielinizzazione sono responsabili della perdita di alcune funzioni, che possono essere parzialmente recuperate con la regressione della flogosi, l'utilizzo di vie di conduzione alternative e attraverso un tentativo di rimielinizzazione. A tale condizione corrisponde la fase clinica caratterizzata da ricadute e remissioni. Le fasi più avanzate sono caratterizzate dalla mancata regressione dei sintomi e dalla stabilizzazione dei deficit neurologici, condizione che corrisponde invece alla fase cronicoprogressiva.

1.1.6 Sintomatologia

La sclerosi multipla rappresenta una delle malattie più variabili e imprevedibili nelle sue manifestazioni poiché esse sono strettamente correlate alla localizzazione delle aree di demielinizzazione, che possono essere variamente distribuite all'interno del sistema nervoso centrale; ciò nonostante, alcuni sintomi ricorrono con maggiore frequenza, in relazione alla distribuzione preferenziale delle placche.

In circa il 40% dei casi il sintomo d'esordio è rappresentato da un'ipostenia a uno o più arti, nel 22% dei casi da neurite ottica (da evidenziare il fatto che circa il 50% di tutti i casi di neurite ottica evolve poi nella SM), nel 21% dei casi da turbe della sensibilità e con frequenza minore da diplopia,

vertigine o disturbi della minzione. Occorre però tenere in considerazione che la frequenza del sintomo d'esordio varia sensibilmente al variare dell'età: i disturbi motori, ad esempio, tendono ad aumentare con l'età, con una frequenza compresa tra il 10-20% in soggetti minori di 20 anni e tra il 38-46% in soggetti ultra-quarantenni, mentre il contrario avviene per la neurite ottica, sintomo d'esordio in circa il 23% dei minori di 20 anni e dell'8% negli ultra-quarantenni; stabile, invece, la frequenza dei disturbi cerebellari nelle diverse fasce d'età. Questi sintomi possono comparire isolatamente o in associazione, tendono generalmente a regredire dopo un periodo di tempo non definito e possono in seguito ripresentarsi, così come possono comparire altri segni e sintomi di sofferenza focale del SNC. In generale, tuttavia, nelle fasi più avanzate della malattia è frequente riscontrare disturbi motori, spasticità, atassia, turbe della sensibilità, deficit visivi e turbe sfinteriche.

È importante aggiungere che la maggior parte dei sintomi dovuti alla SM può essere affrontata e trattata con successo attraverso terapie farmacologiche specifiche e non farmacologiche, tra cui ha un ruolo fondamentale la riabilitazione.

Disturbi piramidali: i disturbi imputabili a un interessamento del sistema piramidale sono i più frequenti, soprattutto in età avanzata, e sono localizzati a uno o più arti. Si manifestano con una riduzione della forza muscolare di varia entità (ipostenia) e aumento del tono muscolare (spasticità), accompagnate da accentuazione dei riflessi osteotendinei, riflessi patologici, quali l'Hoffmann e il Babinski, clono del piede e più raramente della rotula, e diminuzione o abolizione dei riflessi addominali. In alcuni casi la spasticità agli arti inferiori può essere sfruttata dai malati per mantenere la stazione eretta e per la deambulazione, con i cosiddetti "arti a pilone", ma in altri casi essa si rivela determinante nell'impedirla, soprattutto quando l'arto inferiore è iperesteso e il piede flessore plantarmente.

Fatica: la fatica legata alla SM, detta fatica primaria, è uno dei sintomi più frequenti e disabilitanti, colpisce circa l'85% dei soggetti affetti dalla

patologia, che lamentano un eccessivo affaticamento. Tale disturbo si può manifestare dopo banali attività o talvolta anche a riposo, in quanto non dipende dallo sforzo effettuato. Sembra essere strettamente correlata alla presenza di una compromissione piramidale (Djaldetti R, et al., 1996), ma possono influire anche altri aspetti della patologia, quali la disfunzione del sistema immunitario con produzione di citochine pro-infiammatorie, il deficit di metabolismo in alcune aree del sistema nervoso centrale e la necessità di reclutare porzioni più ampie del cervello per svolgere i compiti che erano propri delle aree lese. Alcuni fattori come determinati farmaci, infezioni, disturbi del sonno, stress o l'eccessivo aumento della temperatura corporea o esterna possono peggiorare il sintomo. È importante saper distinguere questa forma di fatica dai più frequenti sintomi associati alla depressione, anche se spesso queste due condizioni coesistono e si aggravano reciprocamente.

Disturbi della sensibilità: sono spesso il sintomo d'esordio e, in generale, la loro comparsa nel corso della malattia è costante. Comprendono alterazioni di entità variabile della sensibilità tattile, termica e dolorifica, delle sensibilità profonde e sintomi soggettivi riferiti come intorpidimento, formicolio, fasciatura e gonfiore, definiti con il termine di parestesie. Tali sintomi possono interessare inizialmente un piede, per poi comparire nell'altro piede e propagarsi ai settori prossimali degli arti inferiori; in alcuni casi sono interessate le mani, determinando la sensazione di "avere dei guanti", mentre in altri casi una lesione al midollo sacrale può determinare la comparsa di ipoestesia perineale. Non è raro il sintomo del dolore, tra cui si annoverano la nevralgia trigeminale, gli spasmi tonici dolorosi notturni e il dolore lombare, provocato, quest'ultimo, da posture abnormi o da ipertonia della muscolatura dorso-lombare.

Le lesioni responsabili di tali sintomi sono localizzate nei cordoni posteriori del midollo spinale, a livello delle vie spino-talamiche e delle zone d'ingresso delle radici posteriori, o possono interessare i sistemi endogeni di controllo del dolore.

Disturbi cerebellari: non sono un sintomo frequente all'esordio, ma sono spesso presenti nelle fasi più avanzate della patologia, determinando in molti casi un elevato grado di disabilità e di limitazione dell'autonomia. Il tremore intenzionale e la dismetria possono manifestarsi ai quattro arti e, più raramente, al tronco, è frequente la comparsa di un'andatura atassico-spastica e talvolta possono comparire disartria e nistagmo. I soggetti che soffrono di tali disturbi riferiscono una sensazione di instabilità, di incertezza nel mantenimento della stazione eretta e della deambulazione con perdite di equilibrio, e vertigini soggettive.

I segni e i sintomi cerebellari hanno una scarsa tendenza alla regressione e quando si manifestano come sintomo d'esordio hanno un cattivo significato prognostico.

Disturbi visivi: come già accennato l'interessamento del nervo ottico è uno dei sintomi d'esordio più frequenti, soprattutto in età giovanile. Circa la metà di tutti i casi di neurite ottica evolve successivamente nella sclerosi multipla. La sua manifestazione è generalmente unilaterale, meno frequentemente bilaterale, ed è caratterizzata da offuscamento del visus, spesso con dolore all'occhio o in sede retro-orbitaria, variamente irradiato ed esacerbato dai movimenti oculari, realizzando il quadro della neurite ottica retrobulbare acuta. L'acuità visiva si presenta ridotta e il campo visivo alterato, in genere per la presenza di uno scotoma centrale causato dall'interessamento della parte centrale del nervo ottico. I pazienti riferiscono di avere la vista annebbiata o di vedere come attraverso un vetro appannato. Il calo della vista può variare da pochi decimi fino alla completa cecità, ma nella maggior parte dei casi è possibile un recupero, anche se lento e variabile, e, talora, permangono degli esiti. Anche il chiasma ottico e le vie ottiche possono essere sedi di demielinizzazione, ma raramente esse si manifestano in sintomi quali le emianopsie.

Una lesione del VI, del III e più raramente del IV nervo ottico può determinare l'insorgenza di diplopia, che ha un decorso favorevole ma la

tendenza a recidivare, e di paralisi internucleare, che si manifesta con deficit dell'adduzione e nistagmo orizzontale nell'occhio abdotto.

Disturbi affettivi e cognitivi: un certo livello di deficit cognitivo si manifesta in circa il 60% dei soggetti affetti da SM, ma solo in un 10% dei casi esso costituisce un problema di grande rilevanza. Le lesioni responsabili di tali deficit sono state rilevate in sede periventricolare e nella sostanza grigia. Si tratta di disturbi dell'attenzione, del ragionamento, delle funzioni esecutive, della memoria, della capacità di calcolo e della percezione visuospatiale mentre il linguaggio è solo raramente compromesso.

Altro sintomo molto frequente è la depressione, che spesso costituisce un sintomo secondario: si parla in questo caso di depressione "reattiva" alla diagnosi, facilmente comprensibile se si pensa alle profonde modificazioni della vita e alla consapevolezza dei malati di SM di essere affetti da una patologia progressivamente invalidante. In casi più rari, invece, la depressione potrebbe essere il risultato di processi patologici innescati dalla malattia e interessanti le vie neuronali preposte al controllo emotivo (Holden K, et al., 2011).

Disturbi sfinterici: questi disturbi sono presenti in oltre due terzi dei casi e possono essere determinati da lesioni localizzate nei lobi frontali, nel tronco encefalico, dove risiede il centro della minzione, e nella porzione terminale del midollo spinale, dove risiede il centro sacrale. Si manifestano più frequentemente con urgenza minzionale e incontinenza, dovute a iperreflessia vescicale, ma non sono rari i casi di ritenzione, imputabili invece a una dissinergia di detrusore e sfintere vescicale. La disfunzione vescicale spesso comporta un incompleto svuotamento con la minzione pertanto favorisce lo sviluppo di infezioni delle vie urinarie che, se non adeguatamente trattate, possono complicarsi in infezioni renali.

Disturbi sessuali: i disturbi della sfera sessuale possono manifestarsi in pazienti di entrambi i sessi. Le cause che ne comportano l'insorgenza non sempre sono di carattere organico, con disfunzione dei centri che regolano tali funzioni, ma possono essere dovuti ad effetti psicologici che sono

correlati alle difficoltà di convivenza con la patologia. Nella donna i problemi più comunemente riscontrati sono il calo del desiderio, la diminuzione dell'orgasmo, i problemi di lubrificazione vaginale, la diminuzione della sensibilità perineale e la fatica che interferisce con l'attività sessuale, mentre nell'uomo si riscontrano perlopiù disfunzioni erettili e difficoltà nell'eiaculazione.

Seppur con frequenza inferiore rispetto ai sintomi fin qui descritti, possono manifestarsi anche:

- *Segni di lesione di altri nervi cranici*: oltre al nervo ottico e ai nervi oculomotori possono essere coinvolti il nervo facciale (VII nervo cranico), che si manifesta con deficit motorio omolaterale alla lesione e il nervo vestibolo-cocleare (VIII nervo cranico), che può determinare l'insorgenza di ipoacusia e nistagmo;

- *Disturbi parossistici*: si tratta di una serie di disturbi che possono comparire improvvisamente e altrettanto rapidamente risolversi, spesso scatenati da movimenti o da stimoli sensitivi. Sono presenti in circa 1 paziente su 4 e possono presentarsi con frequenza estremamente variabile, da un paio di volte al giorno fino a un centinaio. Si ritiene che siano provocati da una scorretta trasmissione degli impulsi nervosi o da una lesione in sede troncale. Fra questi vengono annoverati il segno di Lhermitte, consistente in una sensazione di scosse elettriche che hanno origine a livello cervicale e si irradiano lungo la schiena fino agli arti inferiori, raramente agli arti superiori, scatenate da un movimento di flessione del capo, la nevralgia trigeminale, le crisi di disartria e atassia parossistica, contrazioni toniche, con assunzione di posture in flessione dell'arto superiore e in estensione dell'arto inferiore e dolori improvvisi o parestesie al volto o ad uno degli arti;

- *Disturbi del linguaggio*: il problema della disartria si manifesta con la difficoltà a realizzare i movimenti necessari all'articolazione delle parole e in questi individui è la conseguenza di un danno centrale, per cui i muscoli della fonazione risultano rallentati, talvolta fino alla paralisi, mentre le capacità di comprensione linguistica rimangono intatte;

- *Disfagia*: sintomo che si presenta solo nelle forme croniche più gravi di SM ed è indice di prognosi severa; i malati che soffrono di questo disturbo tendono a soffocarsi bevendo liquidi e ingerendo determinati cibi solidi, soprattutto se friabili, pertanto sono a rischio di malnutrizione, disidratazione e polmoniti ab ingestis;

- *Disturbi respiratori*: le complicanze respiratorie sono comuni negli stadi terminali della malattia e rappresentano una delle cause più frequenti di decesso. È possibile riscontrare tali disturbi anche durante le fasi più precoci, generalmente in concomitanza di una ricaduta, attribuibili a deficit della muscolatura respiratoria, in particolare del muscolo diaframma, o del controllo automatico del respiro, per lesioni del tronco encefalico;

- *Manifestazioni epilettiche*: in merito alla possibile correlazione tra SM ed epilessia i pareri sono tutt'oggi controversi; gli autori a favore di questa ipotesi ritengono che tale correlazione possa trarre origine da effetti correlati al processo di demielinizzazione, quali la generazione di impulsi ectopici, l'aumento della sensibilità alle sollecitazioni meccaniche delle fibre demielinizzate, la trasmissione retrograda di impulsi e la propagazione trasversale degli impulsi, su fibre nervose adiacenti (Calabrese M, et al., 2012);

- *Interessamento del Sistema Nervoso Periferico*: l'interessamento del Sistema Nervoso Periferico in corso di SM è raro, nonostante la compromissione della guaina mielinica, presente sia nel SNC che nel SNP, possa far pensare il contrario. Una spiegazione a questo dato può essere individuata nelle differenze strutturali, in particolar modo delle componenti proteolipidiche, che sembrano essere determinanti nella differente suscettibilità ai processi disimmuni della guaina centrale e della guaina periferica.

1.1.7 Decorso

La SM è una malattia variabile e imprevedibile, ma nonostante la complessa eterogeneità dei sintomi e delle loro manifestazioni sono state identificate alcune modalità di decorso più frequenti.

Parliamo di Sindrome Clinicamente Isolata (CIS), quando si verifica un primo episodio di sintomi neurologici compatibili con una patologia demielinizzante della durata superiore alle 24 ore. Non tutti i soggetti con una CIS svilupperanno necessariamente una SM, ma nella maggior parte dei casi questa costituisce il primo episodio sintomatico ascrivibile a SM. Nell'70% circa dei casi la malattia procede per ricadute, con comparsa acuta o subacuta di un sintomo clinico che raggiunge la sua acme in alcuni giorni o settimane, per poi regredire completamente o parzialmente in circa uno o due mesi. La frequenza delle ricadute è variabile, generalmente inferiore ad una per anno, e tende ad essere maggiore nelle prime fasi per poi diminuire con il progredire della patologia. Quando la malattia si manifesta con questo decorso viene definita a "ricadute e remissioni" (RR). Circa il 50% dei pazienti entra nella forma "secondariamente progressiva" (SP) entro dieci anni dalla diagnosi; a questo tipo di decorso si associa un lento ma progressivo peggioramento dei sintomi che non si risolvono nel tempo. La progressione può essere costante o includere occasionali ricadute con minori remissioni; in quest'ultimo caso il decorso si definisce "secondariamente progressivo con ricadute". In circa il 5-10% dei casi la patologia è progressiva fin dall'inizio, caratterizzata da una progressione della disabilità e dall'assenza di peggioramenti improvvisi, per cui prende il nome di SM "primitivamente progressiva", mentre in un 20% di casi circa abbiamo forme benigne, quadri che spesso non richiedono terapia farmacologica, caratterizzati da poche ricadute che non determinano disabilità e da un'aspettativa di vita sovrapponibile a quella della popolazione generale (Figura 1.3).

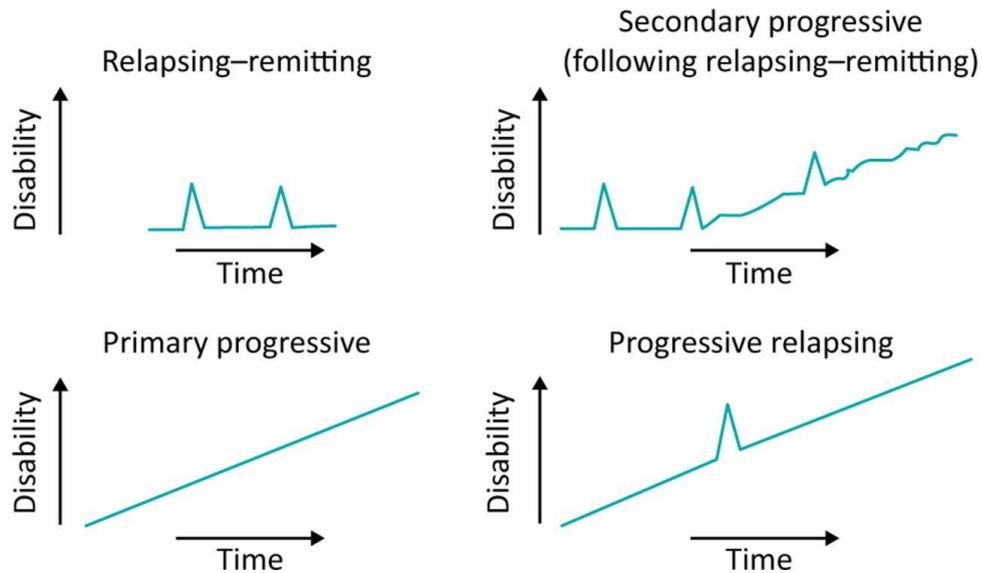


Figura 1.3

1.1.8 Diagnosi

La diagnosi di SM in passato era essenzialmente clinica, basata sulle caratteristiche di due episodi distinti nel tempo; oggi i criteri clinici vengono integrati con indagini strumentali che consentono di ottenere una diagnosi accurata e precoce, anche in pazienti che hanno avuto un solo episodio clinico.

Esame del liquor: il volume del liquor è di circa 140 ml e viene riformato 3-4 volte nell'arco di 24 ore. Dei 500 ml di liquor che vengono prodotti giornalmente l'80% viene prodotto dai plessi corioidei e il 20% dalle leptomeningi. La tecnica che si utilizza più frequentemente per prelevare e analizzare il liquor è la puntura lombare. L'esame citochimico del liquor fornisce indicazioni circa:

- Glicorracia: normalmente il 50-60% di quella ematica;
- Presenza di cellule infiammatorie: normalmente non più di 1-3/mm³ linfociti o monociti, i neutrofili devono essere del tutto assenti;
- Protidorrachia: normalmente non supera i 40-60 mg/100 ml, e le Ig costituiscono meno del 14% della quota totale.

Nei pazienti con SM si rileva un aumento di Ig nel liquor provocato da sintesi intratecale, segno di processo infiammatorio in atto: in questi casi l'analisi eseguita mediante immunoelettroforesi permette di evidenziare la presenza di almeno due bande oligoclonali, che sono invece assenti sul siero. Circa il 5-10% delle persone con SM presenta tuttavia un liquor privo di alterazioni patologiche; questo significa che il liquor di per sé non permette né di confermare né di escludere una diagnosi di SM, ma è importante se valutato insieme al quadro clinico e alle altre valutazioni diagnostiche strumentali.

Potenziali evocati: lo studio dei potenziali evocati veniva usato soprattutto in passato per dimostrare il rallentamento della conduzione nervosa secondario alla perdita di mielina; tale esame viene effettuato attraverso la stimolazione delle vie visive, uditive, somatosensoriali o della via motoria centrale e, in caso di positività, evidenzia un aumento della latenza del potenziale. I potenziali evocati permettono inoltre di identificare lesioni subcliniche, in sedi diverse da quelle clinicamente evidenti, e possono pertanto dimostrare la disseminazione spaziale della malattia.

Risonanza magnetica: a partire dagli anni Ottanta diversi autori hanno iniziato a identificare alcune lesioni caratteristiche nelle RM dei pazienti affetti da SM, e dagli anni Duemila la RM è diventata uno strumento importante nelle mani del neurologo per ottenere una diagnosi precoce, aiutando ad escludere diagnosi alternative e potendo dimostrare la disseminazione nello spazio e nel tempo di nuove lesioni. Le sequenze T2 e FLAIR possono evidenziare lesioni a livello encefalico e del midollo spinale. Per quanto riguarda l'encefalo le lesioni tipiche sono lesioni periventricolari, lesioni del corpo calloso, lesioni iuxtacorticali, lesioni corticali e lesioni infratentoriali, che possono interessare il tronco encefalico e il cervelletto. Le lesioni midollari si localizzano generalmente a livello dei cordoni laterali o posteriori, e sono lesioni relativamente corte, ovvero occupano uno spazio esteso per meno della proiezione di due segmenti vertebrali.

Utilizzando un mezzo di contrasto, generalmente gadolinio, è possibile valutare l'impregnazione delle lesioni, che nella SM correla con l'alterazione della barriera emato-encefalica nel setting di una infiammazione perivascolare, consentendo di differenziare lesioni acute da lesioni croniche. Occorre tenere in considerazione che la presa di contrasto di una nuova lesione può durare da pochi giorni fino ad alcune settimane, con una media di tre settimane e, nella quasi totalità dei casi, per meno di due mesi.

Seguendo quanto detto finora i criteri di RM per la diagnosi di SM più recenti sono i criteri di Mc Donald revisionati nel 2017, secondo i quali si identifica:

- Disseminazione nello spazio: una o più lesioni di almeno 3 mm in almeno due tra le localizzazioni periventricolari, corticali, iuxtacorticali, infratentoriali, del midollo spinale;
- Disseminazione nel tempo: può essere dimostrata con una sola RM quando c'è la contemporanea presenza di lesioni che prendono contrasto, più recenti, e lesioni che non prendono contrasto, più datate, oppure con una nuova lesione T2 o che prende contrasto in una RM di follow-up.

Per quanto riguarda le forme primariamente progressive esiste un set di criteri diagnostici dedicato. In questo caso occorre:

- Almeno un anno di progressione della disabilità;
- Almeno due tra i seguenti:
 - almeno una lesione iperintensa in T2 in una o più tra le regioni periventricolare, corticale, iuxtacorticale o infratentoriale;
 - due o più lesioni iperintense in T2 nel midollo spinale;
 - presenza di bande oligoclonali nel liquor.

1.2 Misure di outcome

1.2.1 Scale di valutazione

Le scale di valutazione rappresentano degli strumenti standardizzati e validati in grado di esplorare in modo oggettivo aspetti clinici e funzionali del paziente. Forniscono pertanto dati confrontabili e omogenei, che possono essere utilizzati come misure di outcome per valutare l'efficacia di un trattamento riabilitativo e durante i successivi follow-up.

Le principali scale di valutazione utilizzate nell'ambito della SM possono indagare circa differenti aspetti della vita dei pazienti:

- Disabilità e misure funzionali: EDSS, FIM, Berg Balance Scale, Timed Up and Go (TUG), Abilhand (Manual Ability Measure), Strength Arm (MRC totale), Strength Leg (MRC totale), Ashworth modificato;
- Qualità della vita: HADS-A&D (Hospital Anxiety and Depression Scale), Life Satisfaction Index, MFIS (Modified Fatigue Impact Scale);
- Funzioni cognitive: MOCA (Montreal Cognitive Assessment), PASAT (Paced Auditory Serial Addition Test), SDMT (Symbol Digit Modalities Test).

L'*Expanded Disability Status Scale* (EDSS) è uno strumento ampiamente utilizzato per la valutazione clinica di pazienti con SM. La scala si basa su sistemi funzionali (SF), quali "funzione piramidale", "funzione cerebellare", "funzione dei nervi cranici", "funzione sensitiva", "funzione vescicale e intestinale", "funzione visiva" e "funzione cerebrale", ai quali viene attribuito un punteggio da 0 a 5. Sulla base dei punteggi di ciascun sistema funzionale viene attribuito uno score totale compreso tra 0, corrispondente all'assenza di segni e sintomi all'esame neurologico, a 10, indicante il decesso dovuto a SM. Un punteggio di particolare rilevanza clinica è il 6, in quanto indicativo della perdita di autonomia nella deambulazione, per la quale risulterà indispensabile un appoggio.

La *scala FIM* (Functional Independence Measure) è uno standard internazionale di misura della disabilità e si presenta come un questionario che valuta 18 attività della vita quotidiana (13 motorio-sfinteriche e 5 cognitive). Ogni attività può ricevere un punteggio variabile fra 1, indice di completa dipendenza dagli altri, e 7, indice di completa autosufficienza.

La *Berg Balance Scale* (BBS) è una scala di valutazione dell'equilibrio che valuta l'abilità di mantenere posizioni con stabilità decrescente, cambiare posizione, effettuare compiti in posizioni instabili, effettuare movimenti con velocità crescenti. È composta da 14 items, con un punteggio massimo di 56; il cut off è stato individuato a 45: un punteggio inferiore a 45 è indice di alta probabilità di caduta.

Il *Timed Up and Go* (TUG) è un test che viene utilizzato per misurare il livello di mobilità di una persona e richiede abilità di bilanciamento statico e dinamico. Misura il tempo che una persona impiega per alzarsi da una sedia, camminare per tre metri, girarsi, tornare alla sedia e sedersi di nuovo. Durante il test, la persona dovrebbe indossare delle scarpe usate regolarmente e usare ogni ausilio per la mobilità normalmente adoperato.

Abilhand è uno strumento di valutazione basato su interviste che misura la difficoltà percepita di un paziente usando le sue mani per eseguire manualmente attività nella vita quotidiana. Il questionario valuta la funzione attiva degli arti superiori, misurando la capacità di un individuo di eseguire compiti bimanuali, indipendentemente dalle strategie utilizzate per completare il compito.

La *Medical Research Council* (MRC) Scale è una scala di 6 valori, che vanno da 0 a 5, per la misurazione della forza attraverso l'osservazione dei movimenti e del comportamento muscolare per i gradi da 0 a 3, e la somministrazione di test manuali muscolari per i gradi 4 e 5.

L'attribuzione del punteggio viene così definita:

- 0 Assenza di contrazione
- 1 Accenno di contrazione muscolare

- 2 Movimento attivo eliminando la forza di gravità
- 3 Movimento attivo contro la forza di gravità
- 4 Movimento attivo contro la forza di gravità e minima resistenza
- 5 Movimento attivo contro massima resistenza

La scala Ashworth (AS) è una scala di valutazione utilizzata largamente nella pratica clinica per quantificare la spasticità muscolare in diverse popolazioni. Attualmente viene quasi esclusivamente utilizzata la *Scala Ashworth Modificata* (MAS) considerata lo strumento clinico più universalmente accettato per misurare l'aumento del tono muscolare in pazienti con lesione del sistema nervoso centrale.

La scala è costituita da 6 scelte con un punteggio variabile da 0 a 4 sempre in relazione al grado di resistenza percepita alla mobilizzazione passiva.

0: Nessun aumento del tono muscolare.

1: Lieve aumento del tono muscolare, blocco (sensazione di resistenza) alla fine del ROM in flessione ed estensione.

1+: Lieve aumento del tono muscolare con blocco minore del 50% dell'arco di movimento.

2: Modesto aumento del tono muscolare con blocco maggiore del 50% ma ROM completo.

3: Notevole aumento del tono muscolare con ROM ancora completo ma raggiungibile con estrema difficoltà e notevole impiego di tempo.

4: Segmento rigido in flessione o in estensione.

L'*Hospital Anxiety and Depression Scale* (HADS-A&D) è una misura auto-somministrata utilizzata per lo screening della presenza di depressione e ansia. È stata sviluppato come uno strumento pratico affidabile, valido e facile da usare per identificare e quantificare depressione e ansia. L'HADS

può essere utilizzato in una varietà di contesti (ad esempio comunità, cure primarie, ospedaliere e psichiatria), e non è inteso come uno strumento diagnostico completo, ma come un mezzo per identificare i pazienti che necessitano di ulteriore valutazione e assistenza. È costituita da 14 items, di cui 7 volti a indagare circa lo stato di ansia e 7 lo stato di depressione.

Il *Life Satisfaction Index* è un questionario che fornisce un punteggio cumulativo riconosciuto come indice valido della qualità della vita, formato da 11 items a cui può essere attribuito un punteggio da 0 a 2 per un totale complessivo compreso tra 0 e 22.

La *Modified Fatigue Impact Scale* (MFIS) è costituita da 21 items, derivati da ricerche effettuate su pazienti con SM, riguardanti l'impatto che la fatica ha nel loro contesto quotidiano, in riferimento alle ultime quattro settimane. È suddivisa in tre subtests, che esplorano la fatica nelle attività fisiche, cognitive e psicosociali, con un punteggio totale variabile tra 0 (nessun impatto della fatica) e 84 (massimo impatto della fatica).

Il *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) è stato progettato come strumento per un rapido screening del deterioramento cognitivo lieve (MCI). Valuta diversi domini cognitivi: attenzione e concentrazione, funzioni esecutive, memoria a breve termine, linguaggio, abilità visuospaziali, astrazione, calcolo e orientamento. Il massimo punteggio possibile è 30 punti; un punteggio uguale o superiore a 26 è considerato normale.

Il *Paced Auditory Serial Addition Task* (PASAT) è un test neuropsicologico utilizzato per valutare la capacità e la velocità di elaborazione delle informazioni e l'attenzione sostenuta e divisa.

Ai soggetti viene dato un numero ogni 3 secondi e viene chiesto di aggiungere il numero appena sentito con il numero immediatamente precedente, utilizzando una voce registrata che garantisce la standardizzazione della velocità di presentazione dello stimolo uditivo. Questo è un compito impegnativo che coinvolge la memoria di lavoro, l'attenzione e le capacità aritmetiche.

Il *Symbol Digit Modalities Test* (SDMT) è un test neuropsicologico che esamina la valutazione dell'attenzione sostenuta (vigilanza e memoria di lavoro). La versione orale del SDMT (Nocentini et al., 2006) è presente nella batteria of Neuropsychological Tests in Multiple Sclerosis (BRB–NT), utilizzata per la valutazione cognitiva delle persone affette da sclerosi.

In questa versione al paziente viene chiesto di associare a voce il numero corrispondente ad ogni simbolo vedendo la chiave-legenda in alto. L'esaminatore esegue le prime 3 associazioni come esempio, si fa continuare il soggetto con le successive 7 associazioni di prova fino alla doppia linea per familiarizzare con il compito. Dall'undicesima associazione si inizia il conteggio del tempo e dei punteggi corretti.

Il punteggio corrisponde al numero delle associazioni corrette e trascritte dall'esaminatore sul foglio delle risposte entro il limite di tempo previsto entro 90 secondi. Il punteggio al SDMT orale varia da 0 a 110.

Tutte le scale cliniche sono riportate nell'allegato A.

1.2.2 Biomarcatori sierici e salivari

Si definisce biomarcatore una molecola (proteina, RNA, DNA) che correla con un dato clinico, costituendo una misura oggettiva di processi biologici e patologici che possono essere utilizzati per individuare il rischio di sviluppare una malattia, aiutare nella elaborazione della diagnosi e monitorare gli eventuali interventi terapeutici. Per comprendere il valore di un biomarcatore è necessario conoscere la relazione fisiopatologica tra il biomarcatore e l'endpoint clinico rilevante. I buoni biomarcatori dovrebbero essere misurabili con poca o nessuna variabilità e dovrebbero cambiare prontamente e in modo affidabile in risposta ai cambiamenti nella condizione o nella sua terapia (Aronson JK, et al., 2017).

In ambito neurologico, più specificatamente nello studio della SM, solo pochi biomarcatori molecolari sono stati finora utilizzati di routine nella pratica clinica poiché la loro validazione richiede molto tempo (Ziemssen T, et al., 2019), tuttavia il numero di potenziali biomarcatori nelle diverse fasi dei test è promettente.

Esistono diversi tipi di biomarcatori nella SM: i biomarcatori diagnostici vengono utilizzati per confermare la diagnosi di SM e possono facilitare la diagnosi precoce di un disturbo rispetto a quanto può essere ottenuto con altri approcci. Un biomarcatore prognostico aiuta a indicare come una malattia può svilupparsi in un individuo quando un disturbo è già diagnosticato. La presenza o l'assenza di un marcatore prognostico può essere utile per la selezione dei pazienti per il trattamento, ma non predice direttamente la risposta a un trattamento. Questo è più specificato dal biomarcatore predittivo che aiuta a determinare quali pazienti hanno maggiori probabilità di beneficiare di una specifica opzione di trattamento. Per la prognosi e la previsione, i biomarcatori dell'attività della malattia comprendono biomarcatori per misurare le componenti infiammatorie e / o neurodegenerative della malattia. Per un trattamento personalizzato della SM, i biomarcatori di risposta al trattamento potrebbero essere utili per differenziare i pazienti in base al loro esito correlato all'efficacia e agli effetti collaterali (responder e non responder al trattamento, nonché pazienti con e senza reazioni avverse al farmaco). Inoltre, questi marcatori trattamento-risposta potrebbero essere applicabili a tutti i trattamenti o essere specifici solo per un determinato trattamento (Ziemssen T, et al., 2019).

Nella SM i fluidi corporei più utilizzati nella ricerca di biomarcatori sono il sangue e il liquor: la raccolta di sangue è sicuramente più rapida e meno invasiva, pertanto viene preferita, nonostante rifletta meno puntualmente cambiamenti all'interno del SNC e possa essere maggiormente influenzata da altre condizioni, come patologie concomitanti. Il liquor, d'altra parte, riflette meglio i cambiamenti all'interno del SNC, ma è possibile ottenerne solo piccole quantità e attraverso procedure più invasive, pertanto più difficilmente ripetibili a distanza di breve tempo.

Per quanto riguarda l'analisi salivare questa sta guadagnando sempre più interesse come nuovo e promettente campo di ricerca per la diagnosi delle malattie neurodegenerative e demielinizzanti (Goldoni R et al., 2022). La raccolta della saliva offre diversi vantaggi, essendo non invasiva, facilmente ripetibile e a basso costo, inoltre è più facile da gestire rispetto al sangue, non coagula, è stabile nel tempo e fornisce poco o nessun rischio di contaminazione incrociata o esposizione a patogeni (Malon RS et al., 2014). Tra gli svantaggi legati all'uso della saliva vi è la mancanza di metodi standardizzati di raccolta e analisi. Inoltre, è stato dimostrato come la concentrazione degli analiti sia tipicamente inferiore rispetto al sangue e potrebbe essere influenzata da diversi fattori, come stati fisiologici, fattori di stress, nonché da variazioni diurne/circadiane (Gleerup HS et al., 2019, Reale et al., 2020).

1.2.3 Risonanza magnetica

La risonanza magnetica (MRI) ha rivoluzionato la diagnosi e la gestione dei pazienti con SM. Poiché i cambiamenti sulla risonanza magnetica probabilmente riflettono vari aspetti della patologia sottostante della sclerosi multipla, le misure di esito della risonanza magnetica sono diventate una componente importante della maggior parte degli studi sulla SM, fornendo prove oggettive e di supporto per gli endpoint clinici (Traboulsee AL et al., 2006).

Le metriche MRI convenzionali sono impiegate principalmente come endpoint primari negli studi clinici proof-of-concept che valutano nuovi farmaci per la SM e come endpoint secondari negli studi definitivi di fase III. Tenendo conto del gran numero di pazienti necessari, dell'ampia esposizione al placebo e della durata relativamente lunga richiesta per gli studi clinici di fase III per mostrare un effetto significativo sulla progressione della disabilità, la necessità di un marcatore paraclinico valido, affidabile e oggettivo dell'evoluzione della malattia non può essere sottovalutata (Bar-Zohar D et al., 2008).

Le misurazioni MRI hanno infatti un grande potenziale come marcatori prognostici nei pazienti con sclerosi multipla, sia per misurazioni convenzionali che per tecniche più innovative come il trasferimento di magnetizzazione, il tensore di diffusione e la risonanza magnetica con spettroscopia protonica. Diversi studi clinici hanno dimostrato che numerose metriche MRI hanno un importante valore prognostico, la maggior parte delle quali può essere facilmente ottenuta da scansioni MRI standard 1.5T. Tuttavia, mentre alcuni di questi parametri hanno superato la prova del tempo e sembrano essere associati a un potere predittivo affidabile, alcuni sono ancora meglio interpretati con cautela (Tiu VE et al., 2022).

CAPITOLO 2

PRESENTAZIONE DELLO STUDIO

2.1 Scopo dello studio

Come abbiamo visto, la possibilità di utilizzare biomarcatori sierici e salivari in pazienti con SM come strumento di monitoraggio degli effetti riabilitativi è ad oggi al centro dell'attenzione di molti ricercatori. Gli obiettivi prefissati di questo studio sono stati:

- Confrontare i livelli di biomarcatori ematici e salivari in controlli sani e persone con SM prima del trattamento riabilitativo;
- Confrontare i livelli di biomarcatori ematici e salivari prima e dopo la riabilitazione nelle persone con SM;
- Confrontare l'effetto di due diversi trattamenti riabilitativi (realtà virtuale e fisioterapia tradizionale senza l'uso della tecnologia);
- Valutare i livelli di biomarcatori ematici e salivari in pazienti con diverso decorso della malattia;
- Confrontare i livelli di biomarcatori ematici e salivari con misure di outcome funzionale;
- Confrontare i livelli di biomarcatori ematici e salivari con i risultati della risonanza magnetica.

In questo lavoro vengono riportati i risultati preliminari dello studio, in cui non è stato ancora svolto il cieco e quindi non è possibile fare confronti tra le due popolazioni di soggetti destinati a due tipi di riabilitazione diversa.

2.2 Materiali e metodi

2.2.1 Selezione dei soggetti

Per questo studio sono stati reclutati 31 controlli sani e saranno reclutate alla fine dello studio 60 persone affette da SM diagnosticata secondo i criteri di McDonald rivisitati del 2017, con i seguenti criteri di inclusione:

- Età superiore a 18 anni;
- Punteggio inferiore o uguale a 6,5 sulla scala estesa dello stato di disabilità (EDSS);
- Fase stabile di malattia con assenza di ricadute negli ultimi tre mesi.

Sono stati considerati criteri di esclusione:

- Assenza di diagnosi definitiva;
- Presenza di fase attiva di malattia;
- Presenza di dolore valutato con scala VAS maggiore o uguale a 6, che possa inficiare il trattamento riabilitativo.

Dei 31 controlli sani 13 erano donne, 15 erano uomini, di età compresa tra i 33 e i 75 anni, età media 54,84 anni.

Al momento della stesura di questo scritto sono stati inclusi nel progetto 18 soggetti con SM, di cui 11 maschi e 7 femmine, di età compresa tra i 34 e i 74 anni, età media 52,94 anni. Due soggetti dopo la valutazione alla baseline (T0) sono usciti dallo studio perché non disponibili a effettuare il trattamento riabilitativo con frequenza di tre sedute settimanali per ragioni familiari/lavorative, e sono stati inseriti tra i drop-out.

2.2.2 Disegno dello studio

Si tratta di uno studio osservazionale/interventistico monocentrico, della durata totale di trenta mesi, condotto presso gli ambulatori del Servizio di

Riabilitazione AISM Liguria e promosso da FISM (Fondazione Italiana Sclerosi Multipla).

I controlli sani sono stati sottoposti al solo prelievo ematico e salivare alla baseline, i pazienti reclutati sono stati dapprima sottoposti a screening e, qualora risultati idonei, sono stati inseriti nello studio della durata di otto mesi. Dopo un periodo osservazionale di due mesi sono stati rivalutati e randomizzati in due gruppi di riabilitazione: riabilitazione non virtuale (N-VR) e riabilitazione con uso della realtà virtuale (VR). Al termine delle sedute i pazienti sono rimasti in osservazione per ulteriori quattro mesi, con valutazioni funzionali e prelievi ematici e salivari dopo due e dopo quattro mesi dal termine del periodo di riabilitazione.

Inoltre, prima e dopo il trattamento riabilitativo i pazienti hanno effettuato una risonanza magnetica.

Le valutazioni sono state eseguite come segue:

- T0 (baseline): arruolamento dei controlli sani e dei pazienti. Tutti i controlli sani e i pazienti inclusi nello studio vengono sottoposti a prelievo ematico e salivare. I pazienti sono valutati con le misure di outcome funzionale e randomizzati nei due gruppi di riabilitazione.
- T1 (2° mese): i pazienti vengono sottoposti a prelievo ematico e salivare, sono valutati con le misure di outcome funzionale ed eseguono la risonanza magnetica, dopodichè iniziano il trattamento riabilitativo.
- T2 (4° mese): al termine del trattamento riabilitativo i pazienti vengono sottoposti a prelievo ematico e salivare, sono valutati con le misure di outcome funzionale ed eseguono la risonanza magnetica.
- T3 (6° mese): i pazienti vengono sottoposti a prelievo ematico e salivare e sono valutati con le misure di outcome funzionale.
- T4 (8° mese): i pazienti vengono sottoposti a prelievo ematico e salivare e sono valutati con le misure di outcome funzionale.

Le valutazioni sono iniziate a Marzo 2022 e sono tutt'ora in corso. I risultati riportati in questo lavoro di tesi non prevedono tutti gli endpoint per mancanza di tutti i dati.

2.2.3 Valutazione clinica

Le scale di valutazione utilizzate in questo studio possono essere suddivise in tre sottogruppi:

- Disabilità e misure funzionali: EDSS (Expanded Disability Status Scale), FIM (Functional Independence Measure), Berg Balance Scale, Timed Up and Go (TUG), Abilhand (Manual Ability Measure), Strength Arm (MRC totale), Strength Leg (MRC totale), Ashworth modificato;
- Qualità della vita: HADS-A&D (Hospital Anxiety and Depression Scale), Life Satisfaction Index, MFIS (Modified Fatigue Impact Scale);
- Funzioni cognitive: MOCA (Montreal Cognitive Assessment), PASAT (Paced Auditory Serial Addition Task), SDMT (Symbol Digit Modalities Test).

Queste scale di valutazione sono già state dettagliatamente descritte nel capitolo 1, paragrafo 1.2.1 e sono riportate nell'allegato A.

2.2.4 Analisi sierologiche e salivari

I campioni di siero e saliva, una volta arrivati in laboratorio, vengono centrifugati.

Il sangue viene centrifugato a 2000 giri per 10 minuti per ottenere il siero, mentre i campioni di saliva vengono centrifugati a 2000 giri per 1 minuto per far sì che la saliva scenda giù dai tamponi imbevuti.

Sia il siero che la saliva vengono poi stoccati in cryovials da 1.5 ml e conservati in freezer a -80°C fino all'analisi.

Su questi campioni viene effettuato un saggio immunologico utilizzando le cartucce Ella che contengono saggi completamente validati da R&D Systems che permettono di ottenere, senza passaggi manuali, dati rapidi e riproducibili. I circuiti microfluidici che eseguono ogni fase del processo di analisi contribuiscono ad eliminare la variabilità e ridurre al minimo gli errori dell'operatore.

Il saggio immunologico funziona in questo modo: il campione passa attraverso un canale microfluidico che lega la proteina di interesse. Successivamente, Ella lava via l'analita non legato e aggiunge un reagente di rilevazione. Poiché ogni canale ha tre reattori nano di vetro (GNR) rivestiti con un anticorpo di cattura, si ottengono risposte triplicate per ogni campione. Le risposte vengono poi generate dalla curva standard calibrata che viene fornita con ogni cartuccia.

Al momento dell'analisi i campioni vengono scongelati, viene prelevata una quantità da ogni campione (75 µl) ed aliquotata in provette da 1.5 µl, successivamente vengono centrifugati per far sì che i residui vadano sul fondo.

Viene poi eseguita una diluizione dei campioni: 1:1 per l'analisi dei NFL e di IL-6, 1:10 per l'analisi del BDNF. La diluizione per ogni campione viene effettuata in una piastra da 96 pozzetti con il Sample Diluent presente nel Kit per l'analisi. L'ordine di caricamento dei campioni nella piastra da 96 è dal basso verso l'alto come riportato anche sulla cartuccia Ella (Figura 2.1).



Figura 2.1

I campioni così diluiti vengono caricati (50 µl/campione) nei pozzetti della cartuccia Ella. Viene caricato anche il Wash Buffer e successivamente la cartuccia viene inserita nello strumento per l'analisi (Figura 2.2).

L'analisi dura 90 minuti.

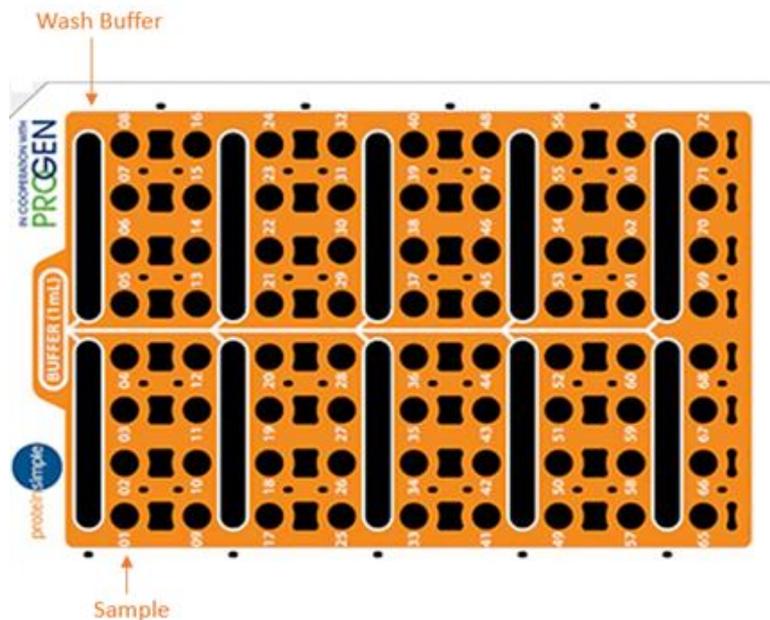


Figura 2.2

Per i campioni di siero viene effettuata l'analisi per i NFL, il BDNF e IL-6.

Per i campioni di saliva viene effettuata l'analisi per NFL e IL-6. Non è possibile quantificare il BDNF nella saliva.

2.2.5 Protocolli di trattamento

I pazienti inclusi nello studio sono stati randomizzati in due gruppi di riabilitazione: riabilitazione non virtuale (N-VR) e riabilitazione con uso della realtà virtuale (VR). I trattamenti sono stati eseguiti per 3 giorni alla settimana per un periodo di 8 settimane (totale di 24 sedute di riabilitazione), ciascuno della durata di circa 45 minuti.

Per i pazienti inseriti nel gruppo N-VR la seduta di riabilitazione è stata così organizzata:

- Condizionamento: tapis roulant per 5 minuti;
- Esercizi di equilibrio per 15 minuti;
- Esercizi di propriocezione per 10 minuti;
- Esercizi di controllo del movimento e rafforzamento di core, braccia e gambe per 15 minuti.

Per i pazienti inseriti nel gruppo VR la seduta di riabilitazione ha seguito il seguente schema:

- Condizionamento: tapis roulant per 5 minuti;
- Esercizi di equilibrio con VRRS di Khymeia per 15 minuti;
- Esercizi di propriocezione con VRRS di Khymeia per 10 minuti;
- Esercizi di controllo del movimento e rafforzamento di core, braccia e gambe con VRRS di Khymeia per 15 minuti.

I protocolli di trattamento dei due gruppi di riabilitazione sono contenuti nell'allegato B.

2.2.6 Analisi e gestione dei dati

Sono stati raccolti dati riguardanti le generalità dei pazienti, le valutazioni cliniche, le neuroimmagini e i livelli plasmatici e salivari dei biomarcatori presi in considerazione. Questi rientrano nella categoria dei “Dati particolari ex art.9 GDPR, relativi allo stato di salute, dati biometrici”.

I dati personali, e in particolare i dati relativi allo stato di salute, sono stati trattati e resi pseudonimizzati attraverso l’abbinamento dell’identità a un codice.

Tutti i dati raccolti nel corso dello studio, ad eccezione del nominativo, sono stati registrati, elaborati e conservati unitamente al codice assegnato a ciascun partecipante.

Sono state effettuate analisi statistiche Anova tra controlli sani e pazienti per biomarcatori, T-test per risultati T0-T1, T0-T2, T1-T2 (ecc), Pearson per la correlazione tra biomarcatori e misure di outcome.

CAPITOLO 3

RISULTATI

Sono state eseguite anzitutto analisi statistiche Anova tra controlli sani e pazienti per valutare alla baseline (T0) i livelli ematici di tutti i biomarcatori presi in esame (NFL, IL-6 e BDNF), e i livelli salivari di NFL e IL-6, poiché BDNF non è dosabile nella saliva.

NFL nel siero dei controlli sani (n=31): media $29,18 \pm 13,03$ pg/ml, mediana 25,3 pg/ml. NFL nel siero dei soggetti con SM (n=17): media $30,39 \pm 12,10$ pg/ml, mediana 28,8 pg/ml.

NFL nella saliva dei controlli sani: media $34,25 \pm 131,11$ pg/ml, mediana 11,5 pg/ml. NFL nella saliva dei soggetti con SM: media $14,52 \pm 3,39$ pg/ml, mediana 13,9 pg/ml (Figura 3.1).

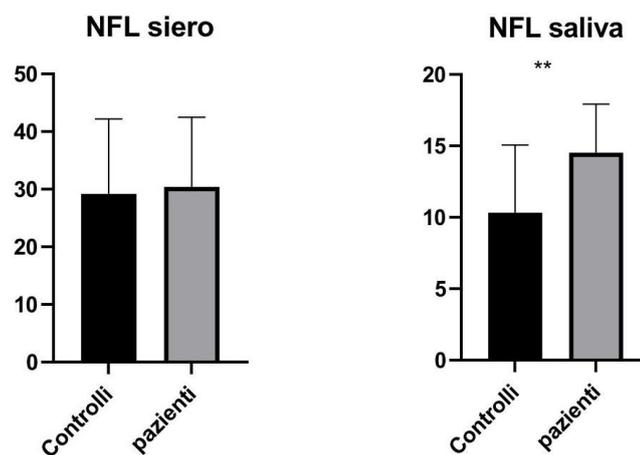


Figura 3.1

IL-6 nel siero dei controlli sani (n=31): media $2,52 \pm 1,68$ pg/ml, mediana 1,96 pg/ml. IL-6 nel siero dei soggetti con SM (n=17): media $3,05 \pm 1,93$ pg/ml, mediana 2,11 pg/ml.

IL-6 nella saliva dei controlli sani: media $6,00 \pm 9,71$ pg/ml, mediana 1,75 pg/ml. IL-6 nella saliva dei soggetti con SM: media $4,27 \pm 4,88$ pg/ml, mediana 2,17 pg/ml (Figura 3.2).

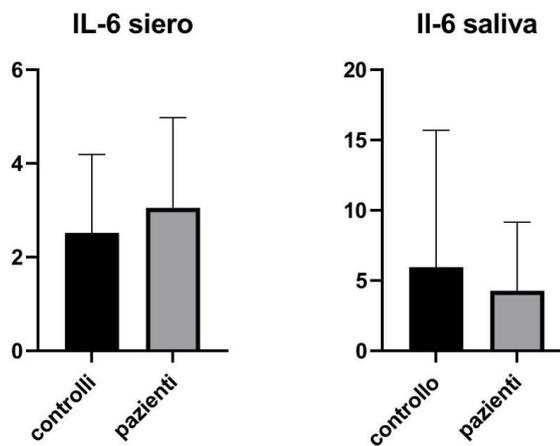


Figura 3.2

BDNF nel siero dei controlli sani (n=17): media $49354,51 \pm 12947,08$ pg/ml, mediana 47120,15 pg/ml. BDNF nel siero dei soggetti con SM (n=9): media $52228,67 \pm 24124,95$ pg/ml, mediana 42303,80 pg/ml (Figura 3.3).

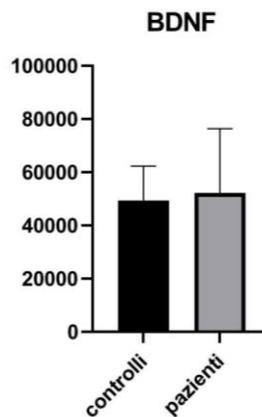


Figura 3.3

La correlazione tra il livello di ciascun biomarcatore nel siero e quello nella saliva è stata fatta su NFL e IL-6, in quanto, come detto, BDNF non è dosabile nella saliva.

Per quanto riguarda i NFL abbiamo un coefficiente di Pearson $r = -0,1703$ con P non significativa, per cui non pare esserci correlazione (Figura 3.4).

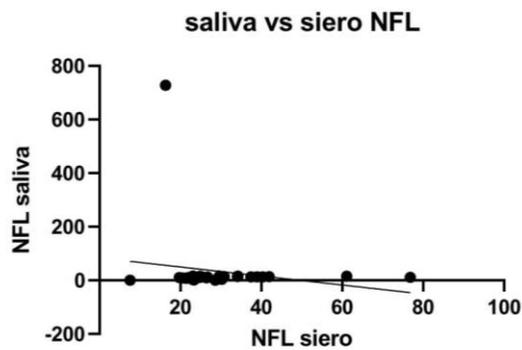


Figura 3.4

Per quanto riguarda IL-6 abbiamo un coefficiente di Pearson $r = 0,4533$ con P significativa ($P < 0,05$), per cui esiste correlazione (Figura 3.5).

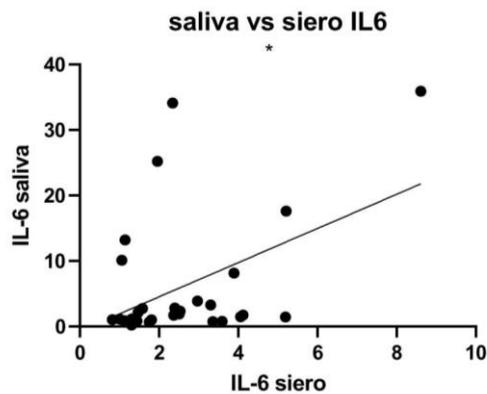


Figura 3.5

L'analisi di Pearson effettuata per valutare correlazioni tra le scale cliniche e i livelli ematici e salivari dei biomarcatori non ha evidenziato significatività ($P > 0.05$).

Infine, sono state condotte analisi statistiche T-test sui livelli di biomarcatori ematici e salivari e sui risultati delle valutazioni cliniche per valutare gli effetti del trattamento riabilitativo. Sono stati presi in considerazione i valori registrati al T1, prima dell'intervento riabilitativo, e al T2, al termine dell'intervento riabilitativo.

I livelli di NFL nel siero dimostrano un trend in aumento.

Nella saliva i risultati non hanno una significatività statistica (Figura 3.6).

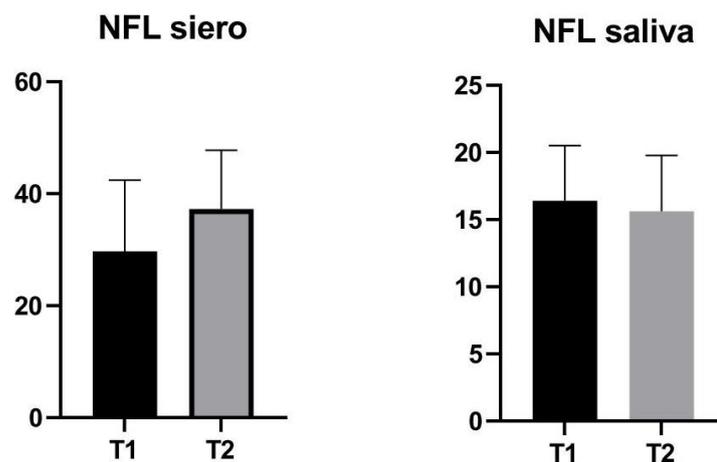


Figura 3.6

IL-6 nel siero non appare significativamente variata.

IL-6 nella saliva sembra avere un trend in diminuzione (Figura 3.7)

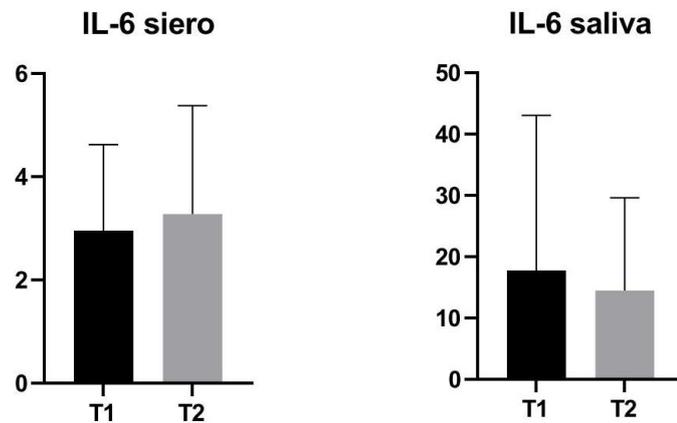


Figura 3.7

BDNF nel siero mostra un trend in aumento (Figura 3.8).

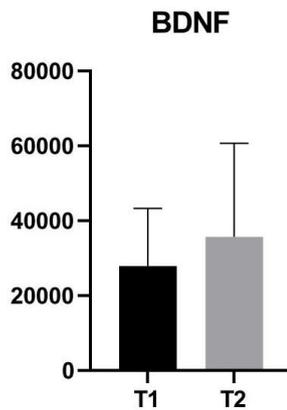


Figura 3.8

Per quanto riguarda le valutazioni cliniche è stato riscontrato un miglioramento significativo ($P < 0,05$) nelle misure di disabilità riportate dalla Berg Balance Scale (BBS) e del Timed Up and Go (TUG) (Figura 3.9).

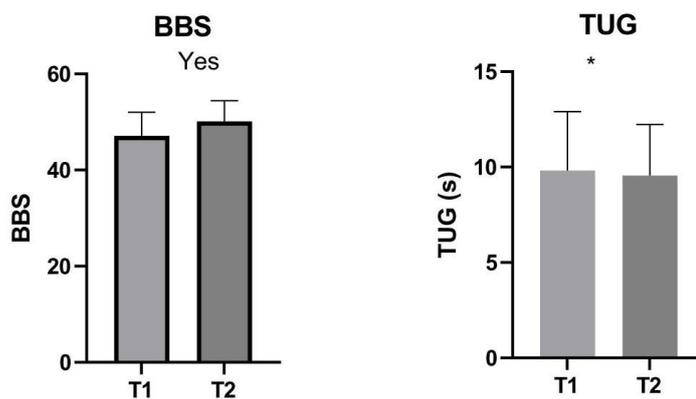


Figura 3.9

Nelle altre scale di valutazione non è stata riscontrata significatività ($P > 0,05$), tuttavia possiamo evidenziare un trend in miglioramento nella scala MFIS, nella scala HADS e nella scala Ashworth, dove risulta particolarmente evidente (Figura 3.10). Nelle scale FIM, Abilhand, MRC, Life Satisfaction Index, MoCA, PASAT e SDMT non si apprezzano significative variazioni.

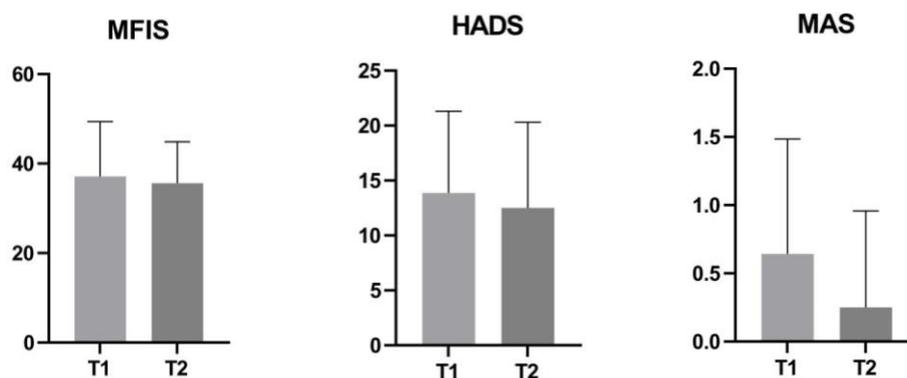


Figura 3.10

CAPITOLO 4

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati riportati nel capitolo 3 fanno riferimento ai dati raccolti fino al momento della stesura di questo scritto, a circa un terzo dello svolgimento completo dello studio, e si tratta pertanto di dati preliminari raccolti in un basso numero di soggetti, che verranno completati nei mesi a venire. Poiché si tratta di dati preliminari e vista l'impossibilità di svolgere il cieco non hanno dato risultati significativi finora. Tuttavia, non è da escludere, data la grande variabilità del campione, che, con una popolazione più ampia, i veri trend che vengono evidenziati nei risultati diventino effettivamente significativi.

Il campione fino ad oggi in esame è risultato essere composto da 18 soggetti con SM, di cui 11 maschi e 7 femmine, apparentemente in disaccordo con la maggiore prevalenza della patologia nel sesso femminile rispetto al sesso maschile (circa 2:1), probabilmente a causa delle più ampie difficoltà nell'aderire a un programma riabilitativo con cadenza trisettimanale. Per la stessa ragione due soggetti hanno abbandonato lo studio dopo la prima valutazione alla baseline. L'EDSS media evidenziata è di circa 4,5 ed è leggermente al di sotto della media della popolazione dei pazienti. Del resto, lo studio prevedeva una EDSS medio-lieve proprio per potersi avvalere di entrambi i tipi di riabilitazione

L'analisi dei biomarcatori ha portato in evidenza come il siero sia un buon substrato per lo studio di tutte le molecole prese in esame (NFL, IL-6 e BDNF), mentre la saliva non appare adeguata alla valutazione del BDNF e in futuro non verrà più utilizzata a questo scopo.

Esaminando i valori del siero con quelli della saliva, nonostante in alcuni casi esista correlazione (IL-6 siero e saliva), i valori riscontrati nel siero appaiono più consistenti e meno altalenanti come già descritto in letteratura (Goldoni R et al., 2022; Mathur D et al., 2021). Inoltre, i parametri rilevati nella saliva possono dipendere da molti fattori, tra i quali il metodo di raccolta della saliva stessa. Infatti, in alcuni lavori viene sottolineato che stimolare la saliva porta alla diluizione di alcuni fattori che non è proporzionale alla concentrazione degli stessi.

Il BDNF, come detto, non è misurabile nella saliva, mentre nel sangue presenta concentrazioni che si attestano sui 1000 pg/ml. È possibile ipotizzare che questa molecola sia in realtà presente in minima quantità nella saliva e la tecnologia utilizzata non sia in grado di misurare tale concentrazione (in letteratura sembrano essere possibili misurazioni del BDNF nella saliva attraverso l'uso del macchinario Samoa, simile a Ella).

Dai dati a disposizione non sembra esserci correlazione tra NFL dosati nel siero e NFL dosati nella saliva, anche se si ipotizza che le variazioni di queste molecole nei due liquidi siano apprezzabili con differenti tempistiche. L'analisi ha invece permesso di dimostrare una correlazione tra IL-6 nel siero e nella saliva. Questo suggerisce che IL-6 possa essere un interessante biomarcatore predittivo di risposta al trattamento.

Nella comparazione tra controlli sani e pazienti è emerso che ci sono delle differenze tra le varie molecole, per la maggior parte non significative. Tuttavia, NFL e BDNF sono aumentati nei pazienti dopo l'intervento riabilitativo. Questo è possibile in quanto NFL possono testimoniare la presenza di danno neuronale o un rimaneggiamento della componente bianca cerebrale e periferica, mentre BDNF potrebbe essere testimonianza di una blanda neuroplasticità basale che tenta di autorigenerare i tessuti danneggiati dalla malattia. Tuttavia, lo scarso numero dei campioni e l'elevata variabilità non hanno dato risultati significativi e l'interpretazione è ancora incerta.

La maggior parte delle scale di valutazione hanno dimostrato un trend in miglioramento dopo l'intervento riabilitativo, a prova del beneficio apportato in termini di disabilità e funzione motoria. Alcune scale motorie sono migliorate in modo statisticamente significativo, altre non sono ancora significative, ma anche in questo caso sarà necessario aumentare il numero di casi per confermare il trend. Al contrario, non sono state riscontrate significative variazioni nelle scale di valutazione utili a indagare l'aspetto cognitivo dei soggetti prima e dopo il trattamento fisioterapico.

BDNF, IL-6 e NFL aumentano dopo l'intervento riabilitativo. Il primo giustifica la principale presenza della neuroplasticità stimolata dalla riabilitazione, gli altri due possono indicare la presenza di un rimaneggiamento tissutale. Non è fuori luogo ipotizzare che nell'endpoint successivo questi valori possano scendere, dando al paziente un maggiore beneficio, tuttavia, la scarsità di dati non ci permette avanzare altre ipotesi.

In riferimento ai due gruppi di riabilitazione (N-VR, VR) non è stato possibile svolgere il cieco, in quanto lo studio risulta ancora in corso; pertanto, al momento attuale, non è possibile trarre conclusioni circa le conseguenze di uno o l'altro intervento riabilitativo.

In conclusione, anche se i dati sono promettenti e sono già molto utili per direzionare lo studio in modo da poter migliorare alcune congetture precedentemente avanzate, non possiamo determinare ancora se questi biomarcatori possano essere utili per quantificare l'effetto della riabilitazione. Sicuramente, possiamo concludere che l'utilizzo della tecnologia Ella per la valutazione dei biomarcatori si è dimostrata valida e attendibile, soprattutto su siero.

Gli obiettivi futuri prevedono di portare a termine lo studio ed eseguire le valutazioni cliniche e laboratoristiche con le conseguenti analisi statistiche sui dati relativi ad un totale di 60 soggetti con SM. Inoltre, è auspicabile che vengano condotti studi più approfonditi per la valutazione dell'efficacia dell'uso della realtà virtuale in ambito riabilitativo, anche in funzione delle

continue innovazioni in campo tecnologico che possono prestarsi a questo scopo.

ALLEGATI

Allegato A – Scale di valutazione

EDSS

- 0 = Esame neurologico normale.
- 1 = Nessuna disabilità, segni minimi in un SF.
- 1,5 = Non c'è disabilità, segni minimi in più di un SF.
- 2 = Disabilità minima in un SF.
- 2,5 = Disabilità minima in due SF.
- 3 = Disabilità moderate in un SF o disabilità lieve in tre o quattro SF, il paziente è completamente autonomo nella deambulazione.
- 3,5 = Il paziente è del tutto autonomo nella deambulazione ma ha una disabilità moderata in un SF.
- 4 = Il paziente è del tutto autonomo nella deambulazione senza aiuto, autosufficiente anche per 12 ore al giorno nonostante una disabilità piuttosto marcata in un SF.
- 4,5 = Il paziente è del tutto autonomo nella deambulazione senza aiuto, anche per tutto il giorno, è in grado di lavorare per tutto il giorno, ma può avere qualche limitazione per un'attività completa.
- 5 = Il paziente è in grado di deambulare senza fermarsi e senza aiuto per circa 200 m; la disabilità è sufficientemente marcata da intralciare un'attività quotidiana.
- 5,5 = Il paziente è in grado di camminare senza aiuto e senza fermarsi per 100 m circa, la disabilità è sufficientemente marcata da impedire una completa attività quotidiana.
- 6 = Il paziente necessita di assistenza saltuaria o costante da un lato (bastone, gruccia, cinghie) per camminare per circa 100 m senza fermarsi.
- 6,5 = Il paziente necessita di assistenza bilaterale costante per camminare per 20 m circa senza fermarsi.
- 7 = Il paziente è incapace di camminare per oltre 5 m, anche con aiuto, ed è essenzialmente obbligato su una sedia a rotelle, è in grado di spostarsi da solo sulla sedia a rotelle e di trasferirsi da essa ad altra sede; passa in carrozzella circa 12 ore al giorno.
- 7,5 = Il paziente è incapace di fare più di qualche passo, è obbligato sulla sedia a rotelle, può avere bisogno di aiuto per trasferirsi.
- 8 = Il paziente è essenzialmente obbligato a letto o su una sedia a rotelle, ma può stare fuori dal letto per gran parte del giorno; mantiene molte funzioni di assistenza personale; ha generalmente un uso efficace degli arti superiori.
- 8,5 = Il paziente è obbligato a letto per buona parte del giorno.
- 9 = Il paziente è obbligato a letto ed è dipendente; può solo comunicare e mangiare (viene alimentato).
- 9,5 = Il paziente è obbligato a letto e totalmente indipendente, incapace di comunicare efficacemente di mangiare/deglutire.
- 10 = decesso dovuto a SM.

FUNCTIONAL INDEPENDENCE MEASURE (FIM)

LIVELLI	7. Autosufficienza completa 6. Autosufficienza con adattamenti		SENZA ASSISTENZA		
	NON AUTOSUFFICIENZA		CON ASSISTENZA		
	5. Supervisione – Predisposizioni /adattamenti 4. Assistenza minima (soggetto =>75%) 3. Assistenza moderata (soggetto =>50%)				
NON AUTOSUFFICIENZA					
2. Assistenza intensa (soggetto =>25%) 1. Assistenza totale (soggetto =>0%)					
		INGRESSO	DIMISSIONE	FOLLOW-UP	
Cura della persona					
A. Nutrirsi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
B. Rassettersi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
C. Lavarsi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
D. vestirsi, dalla vita in su	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
E. Vestirsi dalla vita in giù	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
F. Igiene perineale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Controllo sfinterico					
G. Vescica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
H. Alvo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Mobilità (trasferimenti)					
I. Letto-sedia-carrozzina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
J. W.C.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
K. Vasca o doccia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Locomozione					
L. Cammino, carrozzina	cm <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	cm <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	cm <input type="checkbox"/>
	cr <input type="checkbox"/>		cr <input type="checkbox"/>		cr <input type="checkbox"/>
M. Scale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Comunicazione					
N. Comprensione	U <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>
	v <input type="checkbox"/>		v <input type="checkbox"/>		v <input type="checkbox"/>
O. Espressione	v <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	v <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	v <input type="checkbox"/>
	n v <input type="checkbox"/>		n v <input type="checkbox"/>		n v <input type="checkbox"/>
Capacità relazionali/cognitive					
P. Rapporto con gli altri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Q. Soluzione dei problemi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
R. Memoria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
PUNTEGGIO TOTALE FIM	<input style="width: 40px;" type="text"/>	<input style="width: 40px;" type="text"/>	<input style="width: 40px;" type="text"/>	<input style="width: 40px;" type="text"/>	

Attenzione: non lasciare caselle bianche.

CODICE CENTRO RILEVAZIONE: _____ CODICE RILEVATORE: _____ FIRMA: _____

BERG BALANCE SCALE

- 1) **Passaggio dalla posizione seduta a quella eretta: “Si alzi e cerchi di non usare le mani come appoggio”.**

È capace di alzarsi senza usare le mani e di stabilizzarsi nella nuova postura senza aiuto	4
È capace di sollevarsi da solo ma utilizzando le mani, al primo tentativo	3
È capace di sollevarsi aiutandosi con le mani ma solo dopo alcuni tentativi	2
Necessita di minima assistenza per alzarsi dalla sedia o stabilizzare la nuova postura	1
Ha bisogno di moderata o completa assistenza per alzarsi dalla sedia	0

- 2) **Stare in piedi senza appoggio: “Stia in piedi senza appoggiarsi per due minuti” (se nel compito “2” il soggetto consegue il punteggio massimo (“è in grado di stare in piedi per due minuti con sicurezza”), attribuire il punteggio massimo anche al compito “3” e passare al compito “4”).**

È capace di stare in piedi con sicurezza per due minuti	4
Può mantenere la stazione eretta per due minuti ma con la sorveglianza di una persona	3
Sta in piedi per 30 secondi senza appoggio	2
Necessita di molti tentativi per stare in piedi per 30 secondi senza appoggio	1
Incapace di stare in piedi per 30 secondi senza assistenza	0

- 3) **Stare seduti senza appoggio allo schienale ma con i piedi appoggiati sul pavimento o su un panchetto o sgabello: “Stia seduto senza appoggiare la schiena e con le braccia incrociate per 2 minuti”.**

Può stare seduto senza appoggio e con sicurezza per due minuti	4
Può stare seduto per due minuti ma con la sorveglianza di una persona	3
Può stare seduto per 30 secondi	2
Può stare seduto per 10 secondi	1

Incapace di stare seduto senza appoggio per 10 secondi	0
--	---

4) **Passaggio dalla stazione eretta alla posizione seduta: “Si sieda”.**

Può sedersi senza pericolo e con minimo uso delle mani	4
Controlla la discesa usando le mani	3
Appoggia la parte posteriore delle gambe alla sedia per controllare la discesa	2
Si siede da solo ma non controlla la discesa	1
Necessita di assistenza per sedersi	0

5) **Trasferimenti letto-sedia: “Si sposti da una sedia al letto e viceversa: prima utilizzando una sedia con braccioli, poi una sedia senza braccioli”.**

Può trasferirsi con sicurezza con minimo uso delle mani	4
Può trasferirsi con sicurezza con evidente uso delle mani	3
Può trasferirsi solo con suggerimenti verbali e/o sorveglianza di una persona	2
Necessita di assistenza di una persona	1
Necessita di due persone che lo assistano o lo sorveglino per essere sicuro	0

6) **Stazione eretta ad occhi chiusi: “Stia in piedi con gli occhi chiusi e fermo per 10 secondi”.**

Riesce ad eseguire con sicurezza	4
Riesce ad eseguire con la sorveglianza di una persona	3
Riesce ad eseguire per 3 secondi	2
Incapace di tenere gli occhi chiusi per 3 secondi, ma sta in piedi stabilmente	1
Necessita di aiuto per non cadere	0

7) **Stazione eretta a piedi uniti: “Stia in piedi con i piedi uniti senza appoggio”.**

È capace di unire i piedi da solo e di stare in piedi per 1 minuto con sicurezza	4
--	---

Come sopra, ma con la sorveglianza di una persona	3
È capace di unire i piedi da solo, ma non riesce a mantenerli uniti per 30 secondi	2
Ha bisogno di aiuto per raggiungere questa posizione, ma la può mantenere per 15 secondi	1
Ha bisogno di aiuto per raggiungere questa posizione e non è in grado di mantenerla per 15 secondi	0

- 8) Inclinarsi in avanti a braccia flesse a 90°, partendo dalla posizione eretta: *“Si inclini in avanti il più possibile, con le braccia flesse a 90° e le dita estese”* (l'esaminatore mette un righello all'altezza della punta delle dita quando il soggetto è in posizione. Le dita non devono toccare il righello durante il movimento. La distanza va misurata in base alla posizione più inclinata in avanti che venga raggiunta. Quando possibile, chiedere al soggetto di usare entrambe le braccia durante il movimento, per evitare rotazioni del tronco).

Può spingersi in avanti con sicurezza per più di 25 cm	4
Per più di 12,5 cm con sicurezza	3
Per più di 5 cm con sicurezza	2
Si spinge in avanti ma necessita di sorveglianza	1
Perde l'equilibrio o necessita di sostegno per evitare la caduta	0

- 9) Raccogliere da terra un oggetto (ad es. una pantofola) posizionato davanti ai piedi del soggetto.

Può raccogliere l'oggetto facilmente e con sicurezza	4
Può raccoglierlo, ma necessita della sorveglianza di una persona	3
È incapace di raccoglierlo ma giunge sino a 2-5 cm da esso e può mantenersi in equilibrio da solo	2
È incapace di raccogliere l'oggetto e necessita di sorveglianza durante i tentativi	1
È incapace di provare o necessita di assistenza per non perdere l'equilibrio o cadere	0

- 10) Girarsi guardando dietro la spalla destra e quella sinistra, durante la stazione eretta: *“giri il capo cercando di guardare direttamente dietro di sé, prima a destra e poi a sinistra”* (l'esaminatore può mettere un oggetto direttamente dietro il soggetto, per incoraggiare una migliore rotazione del tronco).

Riesce a guardare indietro da entrambe le parti e sposta bene il peso del corpo	4
Riesce a guardare indietro da un lato solo; dal lato opposto sposta meno il peso del corpo	3
Riesce a guardare solo di lato ma mantiene l'equilibrio	2
Necessita di sorveglianza quando si gira	1
Necessita di assistenza per evitare di perdere l'equilibrio o cadere	0

- 11) Ruotare di 360° gradi: *“ruoti su se stesso completamente, stando sul posto”*, dopo una pausa: ripeta la rotazione nella direzione opposta.

Riesce a ruotare completamente in entrambe le direzioni con sicurezza in 4 secondi o meno	4
Riesce a ruotare completamente con sicurezza in una sola direzione in 4 secondi o meno	3
Riesce a ruotare completamente con sicurezza ma lentamente	2
Necessita di sorveglianza di una persona o di suggerimenti verbali	1
Necessita di assistenza mentre ruota	0

- 12) Appoggiare alternativamente i piedi su un gradino (o su un panchetto) mentre si rimane in stazione eretta senza appoggio: *“metta ciascun piede alternativamente per 4 volte sul gradino o sul panchetto”*.

Riesce a stare in piedi da solo e con sicurezza e a completare 8 movimenti in 20 secondi	4
Come sopra, ma impiega più di 20 secondi	3
Riesce ad eseguire 4 movimenti senza aiuto ma con sorveglianza	2
Riesce ad eseguire più di 2 movimenti e necessita di minima assistenza	1

Ha bisogno di assistenza per non cadere o non riesce ad eseguire	0
--	---

13) Stazione eretta con i piedi in tandem: *“Metta i piedi uno davanti all’altro con un tallone a contatto della punta dell’altro. Se non riesce, metta un piede in avanti in modo che il tallone sia comunque avanti rispetto alla punta dell’altro piede”* (far vedere la posizione del soggetto). Valutare se la lunghezza del passo è maggiore della lunghezza dell’altro piede e se la distanza tra i piedi è simile a quella mantenuta normalmente durante il cammino del soggetto in esame.

Riesce a mantenere da solo i due piedi in tandem e mantiene la posizione per 30 secondi	4
Riesce a mettere i piedi uno davanti all’altro (non in tandem) e mantiene questa posizione per 30 secondi	3
Riesce ad effettuare da solo un piccolo passo e mantiene per 30 secondi questa posizione	2
Necessita di aiuto per effettuare il passo ma può tenere la posizione per 15 secondi	1
Perde l’equilibrio mentre esegue il passo o mentre sta in piedi	0

14) Stare su un piede solo senza appoggio: *“Stia su un piede solo il più a lungo possibile, senza appoggiarsi”*.

Riesce a sollevare la gamba da solo e mantenere la posizione per più di 10 secondi	4
Come sopra, ma per 5-10 secondi	3
Come sopra, ma per 3-4 secondi	2
Cerca di sollevare la gamba e non la mantiene sollevata per 3s., ma riesce a stare in piedi da solo	1
Non riesce nemmeno a tentare di eseguire il compito o necessita di assistenza per evitare cadute.	0

PUNTEGGIO TOTALE (0 – 56)	Punti	
---------------------------	-------	--

ABILHAND

CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

	Come è per lei ?	Impossibile	Difficile	Facile	?
1.	Chiudere la cerniera-lampo dei pantaloni				
2.	Pelare le cipolle				
3.	Temperare una matita				
4.	Togliere il tappo ad una bottiglia				
5.	Limarsi le unghie				
6.	Pelare le patate con un coltello				
7.	Abbottonarsi i pantaloni				
8.	Aprire un vasetto				
9.	Tagliarsi le unghie				
10.	Aprire un sacchetto di patatine				
11.	Scartare una tavoletta di cioccolato				
12.	Piantare un chiodo				
13.	Spamare del burro su una fetta di pane				
14.	Lavarsi le mani				
15.	Abbottonare una camicia				
16.	Passare il filo in un ago				
17.	Tagliare la carne				
18.	Impacchettare dei regali				
19.	Chiudere la cerniera-lampo di un giubbotto				
20.	Chiudere un bottone automatico (camicia, borsa)				
21.	Aprire una nocciola				
22.	Aprire la posta				
23.	Spremere il dentifricio				

CODICE CENTRO RILEVAZIONE: _____ CODICE RILEVATORE: _____ FIRMA: _____

HADS-A&D (HOSPITAL ANXIETY AND DEPRESSION SCALE)

CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

Nelle ultime 4 settimane

1	Mi sento agitato e teso:	<ul style="list-style-type: none"> • quasi sempre • spesso • qualche volta • mai
2	Le cose che un tempo mi piacevano ora mi piacciono:	<ul style="list-style-type: none"> • nello stesso modo • meno di prima • molto poco • quasi per niente
3	Provo un sentimento di apprensione come se dovesse succedere qualcosa di terribile:	<ul style="list-style-type: none"> • sicuramente e in modo intenso • sì ma in modo non troppo intenso • un po' ma non da preoccuparmene • per niente
4	Riesco a ridere e vedere il lato divertente delle cose:	<ul style="list-style-type: none"> • come ho sempre fatto • un po' meno di un tempo • molto meno di un tempo • non vi riesco affatto
5	Mi passano per la mente pensieri preoccupanti:	<ul style="list-style-type: none"> • molto spesso • spesso • a volte, non troppo spesso • solo ogni tanto
6	Mi sento di buon umore:	<ul style="list-style-type: none"> • mai • raramente • qualche volta • quasi sempre
7	Riesco a sedermi e a rilassarmi:	<ul style="list-style-type: none"> • sempre • spesso • qualche volta • mai
8	Mi sento rallentato:	<ul style="list-style-type: none"> • quasi sempre • molto spesso • qualche volta • mai
9	Provo un sentimento simile a paura, un senso di tensione allo stomaco come la sensazione di avere le "farfalle" nello stomaco:	<ul style="list-style-type: none"> • mai • qualche volta • abbastanza spesso • molto spesso
10	Non curo più il mio aspetto fisico:	<ul style="list-style-type: none"> • completamente • non me ne curo abbastanza • forse me ne curo di meno • me ne curo come al solito
11	Mi sento irrequieto e incapace di stare fermo:	<ul style="list-style-type: none"> • moltissimo • abbastanza • poco • per niente
12	Pregusto con piacere le cose:	<ul style="list-style-type: none"> • come ho sempre fatto • un po' meno di un tempo • molto meno di un tempo • quasi per niente
13	Provo delle sensazioni improvvise di panico:	<ul style="list-style-type: none"> • molto spesso • abbastanza spesso • non molto spesso • mai
14	Provo piacere leggendo un libro, oppure seguendo una trasmissione alla radio o alla TV:	<ul style="list-style-type: none"> • spesso • qualche volta • non spesso • molto raramente

CODICE CENTRO RILEVAZIONE: _____ CODICE RILEVATORE: _____ FIRMA _____

LIFE SATISFACTION INDEX

CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

	NON SONO D'ACCORDO	NON LO SO	SONO D'ACCORDO
QUESTO È IL PERIODO PIÙ TRISTE DELLA MIA VITA			
SONO FELICE TANTO QUANTO LO ERO DA PIÙ GIOVANE			
LA MIA VITA POTREBBE ESSERE PIÙ FELICE DI ADESSO			
QUESTI SONO GLI ANNI MIGLIORI DELLA MIA VITA			
LA MAGGIOR PARTE DELLE COSE CHE FACCIO SONO SECCANTI O MONOTONE			
MI ASPETTO CHE IN FUTURO MI ACCADA QUALCOSA DI INTERESSANTE E PIACEVOLE			
MI SENTO VECCHIO E PIUTTOSTO STANCO			
SE RIPENSO ALLA MIA VITA PASSATA, SONO ABBASTANZA SODDISFATTO			
ANCHE POTENDO, NON CAMBIEREI IL MIO PASSATO			
HO FATTO PROGETTI PER COSA DA FARE FRA UN MESE O FRA UN ANNO			
HO AVUTO PARECCHIO DI CIO' CHE MI ASPETTAVO DALLA VITA			

**M-FIS
MODIFIED-FATIGUE IMPACT SCALE**

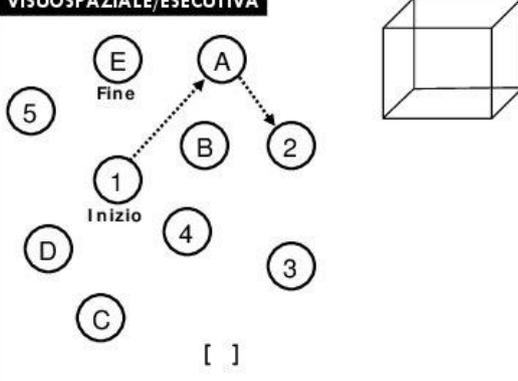
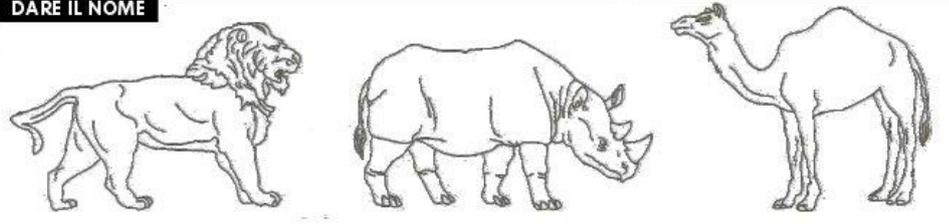
CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

Nelle ultime 4 settimane

		Mai	Raramente	Talvolta	Spesso	Quasi sempre
1	Mi sono sentito meno vigile.	0	1	2	3	4
2	Ho avuto difficoltà a rimanere attento a lungo.	0	1	2	3	4
3	Non sono stato in grado di pensare chiaramente.	0	1	2	3	4
4	Mi sono sentito goffo e scoordinato.	0	1	2	3	4
5	Ho avuto dei vuoti di memoria.	0	1	2	3	4
6	Ho dovuto essere cauto nelle mie attività fisiche.	0	1	2	3	4
7	Ho avuto meno voglia di fare qualunque cosa che richieda uno sforzo fisico.	0	1	2	3	4
8	Ho avuto meno voglia di partecipare ad attività sociali.	0	1	2	3	4
9	Ho avuto difficoltà nello svolgere attività fuori casa.	0	1	2	3	4
10	Ho problemi a sopportare a lungo lo sforzo fisico.	0	1	2	3	4
11	Ho avuto difficoltà a prendere decisioni.	0	1	2	3	4
12	Ho avuto meno voglia di fare cose che richiedessero di pensare.	0	1	2	3	4
13	Mi sono sentito i muscoli deboli.	0	1	2	3	4
14	Mi sono sentito a disagio fisicamente.	0	1	2	3	4
15	Ho avuto difficoltà a portare a termine attività che richiedessero di pensare.	0	1	2	3	4
16	Ho avuto difficoltà ad organizzare i miei pensieri se contemporaneamente sto facendo qualcosa a casa o sul lavoro.	0	1	2	3	4
17	Sono stato meno capace di portare a termine attività che richiedessero sforzo fisico.	0	1	2	3	4
18	Sono stato rallentato nel pensare.	0	1	2	3	4
19	Ho avuto difficoltà a concentrarmi.	0	1	2	3	4
20	Ho dovuto limitare le mie attività fisiche.	0	1	2	3	4
21	Ho avuto bisogno di periodi di riposarmi più spesso e più a lungo.	0	1	2	3	4

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA)

Nome: _____
 Scolarità: _____ Data nascita: _____
 Sesso: _____ Data: _____

<p>VISUOSPAZIALE/ESECUTIVA</p>  <p style="text-align: center;">[] []</p>	<p>Copia il cubo</p>	<p>Disegna un OROLOGIO (alle undici e dieci) (3 punti)</p> <p style="text-align: center;">[] [] [] Quadrante Numeri Lancette</p>	<p>PUNTI</p> <p style="text-align: center;">___/5</p>																		
<p>DARE IL NOME</p>  <p style="text-align: center;">[] [] []</p>				<p>___/3</p>																	
MEMORIA	<p>Leggi la lista di parole, il soggetto deve ripeterle. Tentare il richiamo dopo 5 minuti.</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td></td> <td>FACCIA</td> <td>VELLUTO</td> <td>CHIESA</td> <td>MARGHERITA</td> <td>ROSSO</td> </tr> <tr> <td>1° tentativo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2° tentativo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO	1° tentativo						2° tentativo						<p>Nessun punto</p>
	FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO																
1° tentativo																					
2° tentativo																					
ATTENZIONE	<p>Leggi lista di numeri (1 numero al secondo). Il soggetto deve battere le mani a ogni lettera A. Nessun punto con 2 o più errori.</p>	<p>Il soggetto deve ripeterli nello stesso ordine. [] 2 1 8 5 4</p> <p>Il soggetto deve ripeterli in ordine inverso. [] 7 4 2</p>	<p>___/2</p>																		
	<p>Leggi la lista di lettere. Il soggetto deve battere le mani a ogni lettera A. Nessun punto con 2 o più errori.</p>	<p>[] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J M O F A A B</p>	<p>___/1</p>																		
	<p>Serie di sottrazioni partendo da 100</p>	<p>[] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65</p> <p>4 o 5 sottrazioni corrette: 3 punti, 2 o 3 corrette: 2 punti, 1 corretta: 1 punto, 0 corrette: 0 punti.</p>	<p>___/3</p>																		
LINGUAGGIO	<p>Ripeti: So solo che Giovanni è l'unico da aiutare oggi. []</p> <p>Il gatto si nascondeva sempre sotto la poltrona quando i cani erano nella stanza. []</p> <p>Fluidità / Cita il massimo numero di parole che cominciano con la lettera F in un minuto. [] _____ (se ≥ 11 parole)</p>			<p>___/2</p> <p>___/1</p>																	
ASTRAZIONE	<p>Similarità tra, esempio: banana - arancia = frutta [] trone - bici [] orologio - righello</p>			<p>___/2</p>																	
RICORDO RITARDATO	<p>Deve ricordare le parole SENZA SUGGERIMENTO</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>FACCIA</td> <td>VELLUTO</td> <td>CHIESA</td> <td>MARGHERITA</td> <td>ROSSO</td> </tr> <tr> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> <td>[]</td> </tr> </table>	FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO	[]	[]	[]	[]	[]	<p>Punti solo per parole ricordate senza suggerimento.</p>	<p>___/5</p>							
FACCIA	VELLUTO	CHIESA	MARGHERITA	ROSSO																	
[]	[]	[]	[]	[]																	
	<p>Opzionale</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>Suggerimento categoria</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Suggerimento di più scelte</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Suggerimento categoria					Suggerimento di più scelte													
Suggerimento categoria																					
Suggerimento di più scelte																					
ORIENTAMENTO	<p>[] Data [] Mese [] Anno [] Giorno [] Luogo [] Città</p>			<p>___/6</p>																	
<p>© Z. Nasreddine MD Version 7.0 www.mocatest.org Normale: ≥ 26/30</p>				<p>Totale ___/30</p> <p>Aggiungere un punto se la scolarità è ≤ 12 anni</p>																	
<p>Somministrato da: _____</p>																					

PASAT 3
PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TASK
(3 seconds interval)

CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

SCHEDA A

PROVA di FAMILIARIZZAZIONE – è possibile somministrarli al massimo tre volte

9 + 1	3	5	2	6	4	9	7	1	4
10 ___	4 ___	8 ___	7 ___	8 ___	10 ___	13 ___	16 ___	8 ___	5 ___

9 + 1	3	5	2	6	4	9	7	1	4
10 ___	4 ___	8 ___	7 ___	8 ___	10 ___	13 ___	16 ___	8 ___	5 ___

9 + 1	3	5	2	6	4	9	7	1	4
10 ___	4 ___	8 ___	7 ___	8 ___	10 ___	13 ___	16 ___	8 ___	5 ___

TEST

1 + 4	8	1	5	1	3	7	2	6	9
5 ___	12 ___	9 ___	6 ___	6 ___	4 ___	10 ___	9 ___	8 ___	15 ___
4	7	3	5	3	6	8	2	5	1
13 ___	11 ___	10 ___	8 ___	8 ___	9 ___	14 ___	10 ___	7 ___	6 ___
5	4	6	3	8	1	7	4	9	3
6 ___	9 ___	10 ___	9 ___	11 ___	9 ___	8 ___	11 ___	13 ___	12 ___
7	2	6	9	5	2	4	8	3	1
10 ___	9 ___	8 ___	15 ___	14 ___	7 ___	6 ___	12 ___	11 ___	4 ___
8	5	7	1	8	2	4	9	7	9
9 ___	13 ___	12 ___	8 ___	9 ___	10 ___	6 ___	13 ___	16 ___	16 ___
3	1	5	7	4	8	1	3	8	2
12 ___	4 ___	6 ___	12 ___	11 ___	12 ___	9 ___	4 ___	11 ___	10 ___

Numero di item corretti _____

SDMT (SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST) – COPIA PER IL RILEVATORE

CODICE PZ: _____ ETA': _____ DATA: _____ ORA: _____

┌	>	┐	◌	+	┌)	◌	(
1	2	3	4	5	6	7	8	9

(┐	◌	(┌	>	◌	┌	(>	◌	(>	(◌

┌	>	(◌	┐	>	┌	┌	(◌	>	◌	┌	┌)

┌	┐	+)	(┌	+	┌)	┐	◌	◌	┌	┌	+

◌	┌	┐	(>	┌	(┐	>	+	◌)	┌	>	┌

◌	┐)	┌	>	+	┌	┐	┌	+	◌	◌)	(

>	◌	+	◌	┌	>	┌	◌	(+	◌	┐	>)	┌

◌)	+	◌	┌	+)	┐	(◌	◌	(┌	┌	>

┐	◌	(>	┌	◌	(>	◌	+	┌	┐	┌)	◌

Allegato B – Protocolli di trattamento

Protocollo di trattamento gruppo N-VR

Condizionamento	Tapis roulant 5 minuti	
Equilibrio	15 minuti	
<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Spalliera<ul style="list-style-type: none">○ Simple○ Con task reaching○ Con superficie instabile <input type="checkbox"/> Slancio in quadrupedia<ul style="list-style-type: none">○ Simple○ Slancio bilaterale <input type="checkbox"/> Half-kneeling<ul style="list-style-type: none">○ Simple○ Con task reaching○ Con superficie instabile <input type="checkbox"/> Marcia sul posto<ul style="list-style-type: none">○ Con appoggio○ Senza appoggioocchi aperti occhi chiusi <input type="checkbox"/> Appoggio monopodalico<ul style="list-style-type: none">○ Con appoggio○ Senza appoggioocchi aperti occhi chiusi <input type="checkbox"/> Ostacolo<ul style="list-style-type: none">○ Con appoggio○ Senza appoggio		
Propriocezione	10 minuti	
<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Trasferimento di carico da seduto<ul style="list-style-type: none">○ Simple○ Con task reaching○ Seduto su base instabile		

- Simple
- Plank knee crosses

Protocollo di trattamento gruppo VR

Condizionamento	Tapis roulant 5 minuti			
Equilibrio	CORSA VERSO CASA in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	REACHING in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Spostamento del peso – 1 in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Spostamento del peso - 2 in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	RACCOGLI I FUNGHI in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini neurologici->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	PIATTAFORME GLACIALI in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore

	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
--	-------------	-------	-----------	----------------

Propriocezione	GITA NEL BOSCO Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	NAVIGANDO TRA LE BOE Disordini neurologici->terapia neuromotorio->tronco			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	sensibilità
	GARA IN MONTAGNA Disordini neurologici->terapia neuromotorio->tronco			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	BACINO movimento a 8 Disordini neurologici->terapia neuromotorio->bacino			
	Ripetizioni	Tempo	Velocità	
	Ripetizioni	Tempo	Velocità	
	BACINO movimento circolare Disordini neurologici->terapia neuromotorio->bacino			
	Ripetizioni	Tempo	Velocità	
	Ripetizioni	Tempo	Velocità	
	INSEGUIMENTO Disordini posturali->terapia equilibrio->statico			
	Ripetizione		Tempo	Sensibilità
	Ripetizione		Tempo	Sensibilità

Rinforzo	ANIMALI NEL FIUME aass destro
-----------------	-------------------------------

	Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore destro			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	ANIMALI NEL FIUME aass sinistro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore sinistro			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	FRUTTA NELLA CESTA aass sinistro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore sinistra			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	FRUTTA NELLA CESTA aass destro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore destro			
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	Ripetizioni	Tempo	Punteggio	Moltiplicatore
	ALZARSI sulle PUNTE – reaching temporizzato Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore			
	Velocità	Ripetizione	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizione	Tempo	Punteggio
	ALZATA – REACHING TEMPORIZZATO Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	MARCIA SUL POSTO in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio

Estensione ginocchio destro – catching Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	Velocità
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	Velocità
Estensione ginocchio Sinistro – catching Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	Velocità
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	Velocità
Estensione ginocchio destro – reaching Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Estensione ginocchio Sinistro – reaching Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Reaching Medio con mensola – arto destro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore destro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Reaching Medio con mensola – arto sinistro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto superiore sinistro				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	
ALZARSI sulle PUNTE – Catching (tempo consigliato 2 min) Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore				
Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello	

	Ripetizione	Tempo	Punteggio	Livello
	ALZATA – Catching (tempo consigliato 2 min) Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	T001 BR destro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	T001 BR sinistro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	T003A destro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	T003A sinistro Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Anca destra – Catching (tempo consigliato 2 min) in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Anca sinistra – Catching (tempo consigliato 2 min) in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/>			

	Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Ab-adduzione di Anca destra in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore destro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Ab-adduzione di Anca sinistra in piedi <input type="checkbox"/> seduto <input type="checkbox"/> Disordini neurologici->terapia neuromotorio->arto inferiore sinistro			
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio
	Velocità	Ripetizioni	Tempo	Punteggio

BIBLIOGRAFIA

1. Aronson JK, Ferner RE. Biomarkers-A General Review. *Curr Protoc Pharmacol*. 2017 Mar 17;76:9.23.1-9.23.17. doi: 10.1002/cpph.19. PMID: 28306150.
2. Bar-Zohar D, Agosta F, Goldstaub D, Filippi M. Magnetic resonance imaging metrics and their correlation with clinical outcomes in multiple sclerosis: a review of the literature and future perspectives. *Mult Scler*. 2008 Jul;14(6):719-27. doi: 10.1177/1352458507088102. Epub 2008 Apr 18. PMID: 18424478.
3. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006 May 11;441(7090):235-8. doi: 10.1038/nature04753. Epub 2006 Apr 30. PMID: 16648838.
4. Calabrese M, Grossi P, Favaretto A, Romualdi C, Atzori M, Rinaldi F, et al. Cortical pathology in multiple sclerosis patients with epilepsy: a 3 year longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012 Jan;83(1):49-54.
5. Djaldetti R, Ziv I, Achiron A, Melamed E. Fatigue in multiple sclerosis compared with chronic fatigue syndrome: A quantitative assessment. *Neurology*. 1996 Mar;46(3):632-5.
6. Favale E, editor. *Neurologia di Fazio Loeb*. V edizione ed. Roma: Seu Roma; 2003.
7. Gleerup HS, Hasselbalch SG, Simonsen AH. Biomarkers for Alzheimer's Disease in Saliva: A Systematic Review. *Dis Markers*. 2019 May 2;2019:4761054. doi: 10.1155/2019/4761054. PMID: 31191751; PMCID: PMC6525835.

8. Goldoni R, Dolci C, Boccalari E, Inchingolo F, Paghi A, Strambini L, Galimberti D, Tartaglia GM. Salivary biomarkers of neurodegenerative and demyelinating diseases and biosensors for their detection. *Ageing Res Rev.* 2022 Apr;76:101587. doi: 10.1016/j.arr.2022.101587. Epub 2022 Feb 11. PMID: 35151849.
9. Holden K, Isaac CL. Depression in multiple sclerosis: reactive or endogenous? *Clin Neuropsychol.* 2011 May;25(4):624-39.
10. Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 2003;72:609-42. doi: 10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629. Epub 2003 Mar 27. PMID: 12676795.
11. Kikuchi T, Sakaguchi W, Saruta J, Yamamoto Y, To M, Kurimoto Y, Shimizu T, Tsukinoki K. Hypertriglyceridemia-induced brain-derived neurotrophic factor in rat submandibular glands. *J Oral Biosci.* 2020 Dec;62(4):327-335. doi: 10.1016/j.job.2020.08.003. Epub 2020 Sep 12. PMID: 32931901.
12. Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol.* 2010 Jul;40(7):1830-5. doi: 10.1002/eji.201040391. PMID: 20583029.
13. Malon RS, Sadir S, Balakrishnan M, Córcoles EP. Saliva-based biosensors: noninvasive monitoring tool for clinical diagnostics. *Biomed Res Int.* 2014;2014:962903. doi: 10.1155/2014/962903. Epub 2014 Sep 8. PMID: 25276835; PMCID: PMC4172994.
14. Malpass K. Multiple sclerosis: 'Outside-in' demyelination in MS. *Nat Rev Neurol.* 2012 Jan 17;8(2):61. doi: 10.1038/nrneurol.2011.217. PMID: 22249838.
15. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature.* 2006 May 11;441(7090):231-4. doi: 10.1038/nature04754. Epub 2006 Apr 30. PMID: 16648837.

16. Mathur D, Mishra BK, Rout S, Lopez-Iranzo FJ, Lopez-Rodas G, Vallamkondu J, Kandimalla R, Casanova B. Potenziali biomarcatori associati alla patologia della sclerosi multipla. 2021 Set 25;22(19):10323. DOI: 10.3390/ijms221910323. PMID: 34638664; PMCID: PMC8508638.
17. Mechelli R, Anderson J, Vittori D, Coarelli G, Annibaldi V, Cannoni S, et al. Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 B-cell epitopes in multiple sclerosis twins. *Mult Scler.* 2011 Nov;17(11):1290-4.
18. Nocentini U, Giordano A, Di Vincenzo S, Panella M, Pasqualetti P. The Symbol Digit Modalities Test - Oral version: Italian normative data. *Funct Neurol.* 2006 Apr-Jun;21(2):93-6. PMID: 16796824.
19. Ozkul C, Guclu-Gunduz A, Irkec C, Fidan I, Aydin Y, Ozkan T, Yazici G. Effect of combined exercise training on serum brain-derived neurotrophic factor, suppressors of cytokine signaling 1 and 3 in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2018 Mar 15;316:121-129. doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.01.002. Epub 2018 Jan 3. PMID: 29329698.
20. Saruta J, Sato S, Tsukinoki K. The role of neurotrophins related to stress in saliva and salivary glands. *Histol Histopathol.* 2010 Oct;25(10):1317-30. doi: 10.14670/HH-25.1317. PMID: 20712016.
21. Sindern E, Haas J, Stark E, Wurster U. Early onset MS under the age of 16: clinical and paraclinical features. *Acta Neurol Scand.* 1992 Sep;86(3):280-4.
22. Srpova B, Sobisek L, Novotna K, Uher T, Friedova L, Vaneckova M, Krasensky J, Kubala Havrdova E, Horakova D. The clinical and paraclinical correlates of employment status in multiple sclerosis. *Neurol Sci.* 2022 Mar;43(3):1911-1920. doi: 10.1007/s10072-021-05553-z. Epub 2021 Aug 15. PMID: 34392392.
23. Stelmasiak Z, Koziol-Montewka M, Dobosz B, Rejdak K, Bartosik-Psujek H, Mitosek-Szewczyk K, Belniak-Legieć E. Interleukin-6 concentration in serum and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis

- patients. *Med Sci Monit.* 2000 Nov-Dec;6(6):1104-8. PMID: 11208463.
24. Tiu VE, Enache I, Panea CA, Tiu C, Popescu BO. Predictive MRI Biomarkers in MS-A Critical Review. *Medicina (Kaunas).* 2022 Mar 3;58(3):377. doi: 10.3390/medicina58030377. PMID: 35334554; PMCID: PMC8949449.
25. Traboulsee AL, Li DK. The role of MRI in the diagnosis of multiple sclerosis. *Adv Neurol.* 2006;98:125-46. PMID: 16400831.
26. Veldhoen M, Stockinger B. TGFbeta1, a "Jack of all trades": the link with pro-inflammatory IL-17-producing T cells. *Trends Immunol.* 2006 Aug;27(8):358-61. doi: 10.1016/j.it.2006.06.001. Epub 2006 Jun 21. PMID: 16793343.
27. Yarom Y, Naparstek Y, Lev-Ram V, Holoshitz J, Ben-Nun A, Cohen IR. Immunospecific inhibition of nerve conduction by T lymphocytes reactive to basic protein of myelin. *Nature.* 1983 May 19-25;303(5914):246-7.
28. Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017 Apr 3;9(4):a018309. doi: 10.1101/cshperspect.a018309. PMID: 28373358; PMCID: PMC5378049.
29. Ziemssen T, Akgün K, Brück W. Molecular biomarkers in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2019 Dec 23;16(1):272. doi: 10.1186/s12974-019-1674-2. PMID: 31870389; PMCID: PMC6929340.

RINGRAZIAMENTI

Faber est suae quisque fortunae.

Ognuno è fabbro del proprio destino. Quando ho iniziato questo secondo percorso di laurea ho pensato che, se fossi arrivata al termine, mi sarei tatuata questa frase. Ma è poi vero? Siamo davvero gli unici responsabili del nostro destino? Sono giunta alla conclusione che così non è, perché non sarei mai arrivata dove sono oggi contando sulle mie uniche forze e senza l'aiuto di moltissime persone, in ogni sua forma. Inutile dire quante lacrime ho versato nello scrivere queste parole e rendendomi conto di quante persone mi sono state vicine. Sono davvero fortunata.

In primis grazie ai miei genitori, il vero pilastro della mia vita, mi avete fornito ogni tipo di supporto che si possa immaginare: emotivo, morale, economico. Quello che di bello ho nella vita lo devo soprattutto a voi. So che se anche non fossi arrivata a questo traguardo mi avreste sostenuta sempre e comunque. Spero di poter essere nella vita una persona bella tanto quanto lo siete voi.

Al professor Angelo Schenone, per la sua gentile assistenza e per essere stato un ottimo professore da cui ho imparato tanto.

A Valeria Prada, la mente dello studio che è stato oggetto della mia tesi. Grazie per l'aiuto ricevuto, gli insegnamenti che mi hai dato e per la pazienza di fronte ai miei errori e alle mie domande.

A Giampaolo Bricetto, per aver creduto in me e avermi aiutato fin dal momento della preparazione della mia prima tesi di laurea.

A tutto lo staff dell'AIMS, con cui ho avuto la fortuna di lavorare negli ultimi nove anni.

Ad Andre. Ho abbozzato i primi ringraziamenti quando ti avevo appena conosciuto. All'epoca chi avrebbe detto che saresti diventato il centro della mia vita? In questi ultimi due anni mi hai supportato e sopportato senza mai lamentarti dei weekend chiusi in casa, delle serate passate sui libri, delle vacanze mancate. Mi sei stato vicino sempre e comunque, facendomi sentire la persona più fortunata del pianeta. Grazie di cuore.

Alle mie nonne, che non hanno mai smesso di credere in me e a cui voglio un bene infinito.

A tutta la mia famiglia, che è la versione potenziata e migliorata della famiglia del Mulino Bianco. Sono fortunata ad avere attorno tante persone che mi vogliono così bene e me lo dimostrano da 33 anni a questa parte.

A Giulia. Devo confessare che ci sono stati attimi di sconforto in cui ho stretto i denti pensando che avrei davvero voluto arrivare al momento di scrivere i tuoi ringraziamenti, perché se sono arrivata a questo punto un po' di merito è anche tuo. Sei stata la prima alla quale ho rivelato di voler intraprendere questo percorso e da parte tua ho ricevuto sempre entusiasmo e incoraggiamento. In un momento di crisi, davanti a un immancabile sushi, mi hai detto "non voglio vivere in un mondo in cui tu non sia medico". Ecco, magari è stata un'esternazione un po' esagerata, ma quanta forza mi ha dato! Con te ho imparato il vero significato di amicizia. Grazie per esserci non sempre, ma sempre quando conta.

A Paola. La famiglia che ho scelto. Sei la migliore cugina che potessi sperare di avere, grazie per essere sempre presente, nel bene e nel male so che potrò sempre contare su di te. Hai stravolto la tua vita e ne sei uscita più forte di prima, consapevole che, a volte, cambiare fa bene, soprattutto se c'è di mezzo una bralette.

Alle mie amiche fagiane: Valeria, Alessia, Giorgia, Stefania. Siete il gruppo di amiche più eterogeneo che si possa immaginare. E siete fantastiche. Grazie per tutti i momenti belli passati insieme e per quelli che verranno.

A Beatrice. Galeotto fu il crociato. Già, perché in fondo è grazie a lui se sei diventata una delle mie più care amiche. Grazie perché so che da te potrò sempre aspettarmi un punto di vista critico e sincero, e per me è qualcosa di impagabile.

A Marzia. Dai tempi dell'asilo ad oggi, passando per un intricato labirinto di scelte e sfortune condivise, fino a intravedere la luce, sempre insieme. Oggi è un giorno di festeggiamenti e non vedo l'ora di ripeterlo a parti inverse. Sei forte, e in fondo lo hai sempre saputo. Anche se non abbastanza da calarti dentro un bidone della spazzatura, ma per quello esistono i veri amici.

Agli amici che da parecchi anni condividono con me passione e sofferenze: Ema che è la dolcezza in persona e poi insulta a gran voce i tifosi ospiti, Davide in ansia totale nelle partite importanti, Jacopo che conosce tutti i giocatori di qualunque squadra fino alla serie D, Richi che cade dagli spalti a Torino, Mattia che individua sempre i più disagiati, Flavio che insulta il portiere di turno. Tutto questo per me ha sentore di casa. Per la stella da che parte..?

A Marika e Pisto. Una persona che mi conosceva bene un giorno mi disse: "loro sono quegli amici che non vedi quasi mai, ma sai che saranno sempre nella tua vita". Non avrei saputo esprimermi meglio.

A Ciccio, Marti, Gimmy, Chiara, Mirko, Carola e tutto il gruppo. Se è vero che ognuno ha gli amici che si merita io devo essere stata proprio brava. Grazie per aver condiviso con me tante esperienze e tanti momenti belli in questi ultimi anni.

A Chiara. Dal momento in cui ti ho visto scostarti per non essere sfiorata da un povero corpo inerme in caduta libera ho capito che eravamo anime affini e che sarebbe nata una bella amicizia. Senza contare che per arrivare a questo hai addirittura affrontato il presentimento di una setta satanica (povero grifone).

A Eleonora. A te voglio dire di non mollare mai e di perseguire i tuoi obiettivi, qualunque essi siano, perché non conosco persona che se lo meriti di più.

Sei stata una delle amiche con cui ho condiviso questo percorso, in tutti i suoi pregi e i suoi difetti. Grazie per tutte le risate fatte insieme e per tutti i punti che hai fatto conquistare al Genoa. Non mi resta che aggiungere: vuoi un confetto??

A Sharon e Benny. Siete una forza della natura e io sono davvero felice di avervi nella mia vita. Grazie per avermi sempre incoraggiato e di aver sempre portato un tocco di leggerezza anche nei momenti più difficili.

A Martina, la collega più preparata che si possa avere, compagna di concerti, instancabile ballerina, viaggiatrice, musicista, l'emblema della donna multitasking. Non so se sono mai riuscita a farti capire tutta l'ammirazione che provo nei tuoi confronti. Nel dubbio, colgo l'occasione.

A Giada, compagna di mille serate, che in questi anni ha condiviso con me gioie e dolori del lavorare e studiare contemporaneamente. Aspetto con ansia di poter festeggiare anche la fine del tuo percorso.

A tutti i miei amici del GB, perché con voi ho trascorso le giornate e le serate più pazze e divertenti degli ultimi anni. Vi voglio bene.

A Barbara, che è arrivata nella mia vita in un momento di difficoltà e ha messo il piede sull'acceleratore.

A tutte le persone che c'erano quando ho iniziato questo percorso, a chi c'è ora, a chi c'è stato per alcuni tratti e a chi c'è sempre stato. Perché ciascuna, in qualche modo, ha fatto sì che io fossi la persona che sono adesso.

A me stessa, per non aver mai smesso di crederci.