

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Neuroscienze

**Corso di Laurea Triennale in
Tecniche di Neurofisiopatologia**

Presidente: Prof. A. Antonini

**UNA FINESTRA SULL'INTERAZIONE MENTE-CERVELLO-CORPO: RUOLO
DEL CONTROLLO INIBITORIO NOCICETTIVO DIFFUSO DISCENDENTE
E DEL PREIMPULSO INIBITORIO NEI DISTURBI MOTORI FUNZIONALI**

Relatore: Prof. A. Antonini

Correlatori: Prof. M. Tinazzi, Dott.ssa I. A. Di Vico

Laureando: Claudia Temporin

Matricola: 2042294

Anno Accademico 2023-2024

ABSTRACT

Introduzione: i Disturbi Motori Funzionali (FMD) sono condizioni neurologiche gravi e invalidanti, la cui diagnosi si basa su segni clinici di inconsistenza e incongruenza.

Alcuni studi suggeriscono che la Prepulse Inhibition (PPI) e i Controlli Inibitori Nocicettivi Diffusi (DNIC), attivati dalla Modulazione Condizionata del Dolore (CPM), siano alterati nei pazienti con FMD; tuttavia, non esistono ancora biomarcatori diagnostici definiti per la diagnosi di questi disturbi.

Materiali e Metodi: sono stati reclutati 16 pazienti con FMD e 32 soggetti di controllo (SC). Lo studio aveva due obiettivi: il primo era valutare l'effetto della PPI sulle aree delle risposte R2 e R2c, ottenute coi Blink Reflex, rispetto ai valori di Baseline (BL); il secondo era valutare l'effetto del DNIC, attivato dal protocollo CPM, confrontando l'ampiezza del complesso N2P2, registrato coi Potenziali Evocati Laser (LEP) a seguito di stimolazione laser (Nd:YAP) di mano (AS) e piede (AI) destri, in tre condizioni: Baseline (BL), durante stimolazione nocicettiva condizionante (HNCS) e 15 minuti dopo HNCS (post-HNCS). Il dolore è stato valutato dai partecipanti con la scala NRS (0-10).

Risultati: l'analisi dei dati del gruppo di SC ha mostrato differenze statisticamente significative tra le condizioni BL e PPI per le aree di R2 e R2c (ANOVA a misure ripetute condizione*gruppo rispettivamente $F=9,431$, $p=0,004$ e $F=9,755$, $p=0,003$), confermate dall'analisi post-hoc (Bonferroni $p<0,05$). Nei pazienti con FMD non sono emerse differenze significative tra le condizioni ($p>0,05$). L'analisi dell'ampiezza dei complessi N2P2, registrati a seguito di stimolazione dell'AS e dell'AI nel gruppo di SC, ha evidenziato differenze statisticamente significative tra le condizioni BL, HNCS e post-HNCS (ANOVA a misure ripetute, rispettivamente $F=20,077$, $p<0,0001$ e $F=4,649$, $p=0,012$), confermate dall'analisi post-hoc (Bonferroni $p<0,05$). Nei pazienti con FMD, sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra le tre condizioni per stimolazione dell'AS (ANOVA a misure ripetute, $F=20,077$, $p<0,001$), confermate dall'analisi post-hoc (Bonferroni $p<0,05$). Invece, non sono emerse differenze significative tra le tre condizioni per stimolazione dell'AI ($p>0,05$).

Discussione: i risultati suggeriscono che la PPI potrebbe rappresentare un marker di disfunzione della regolazione sensoriale, poiché nei pazienti con FMD è stata osservata una ridotta capacità di filtrare gli stimoli sensoriali irrilevanti. Inoltre, lo studio del pathway nocicettivo discendente ha mostrato differenze significative tra i pazienti con FMD e i soggetti di controllo solo a seguito dell'applicazione del CPM all'AI. Questi risultati sono parzialmente coerenti con uno studio precedente che ha osservato una via ascendente normale nei pazienti con FMD, ma una ridotta risposta al CPM, suggerendo una compromissione del controllo inibitorio del dolore discendente. Un campione più ampio di pazienti con FMD potrebbe confermare tali risultati.

Conclusioni: la PPI e il CMP potrebbero essere strumenti utili di supporto per la diagnosi dei Disturbi Motori Funzionali.

SOMMARIO

1. INTRODUZIONE.....	1
1.1 Disturbi Motori Funzionali.....	1
1.1.1 Caratteristiche cliniche.....	2
1.1.2 Fisiopatologia.....	4
1.1.3 Diagnosi e trattamento.....	5
1.2 Blink Reflex.....	6
1.2.1 Anatomia e Fisiologia.....	7
1.2.2 Le risposte.....	8
1.2.3 Procedimento del test elettroencefalografico.....	9
1.2.4 Artefatti e limiti della metodica.....	11
1.3 Prepulse Inhibition.....	11
1.4 Potenziali Evocati Laser.....	12
1.4.1 Anatomia e Fisiologia.....	13
1.4.2 Le risposte.....	14
1.4.3 Procedimento del test elettroencefalografico.....	15
1.4.4 Artefatti e limiti della metodica.....	17
1.5 Modulazione Condizionata del Dolore.....	18
2. MATERIALI E METODI.....	20
2.1 Obiettivo.....	20
2.2 Popolazione.....	20
2.3 Prepulse Inhibition e Blink Reflex.....	22
2.4 Modulazione Condizionata del Dolore e LEP.....	24
2.5 Analisi statistica.....	26
3. RISULTATI.....	29
3.1 Caratteristiche clinico-demografiche.....	29
3.2 Analisi della risposta R2 e R2c.....	29

3.3	Analisi del complesso N2P2 e dei valori NRS per l'AS.....	32
3.4	Analisi del complesso N2P2 e dei valori NRS per l'AI.....	34
3.5	Correlazioni tra l'ampiezza di N2P2 e i valori di NRS.....	37
4.	DISCUSSIONE.....	38
5.	CONCLUSIONI.....	41
5.1	Implicazioni cliniche.....	41
5.2	Prospettive future.....	41
	BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	43

ABBREVIAZIONI

FMD: disturbi funzionali del movimento
TCC: terapia cognitivo-comportamentale
OOc: muscolo orbicolare dell'occhio
EMG: elettromiografia
SC: soggetti di controllo
PPI: prepulse inhibition
PPTg: nucleo tegmentale peduncolopontino
nRPC: nucleo reticolare del ponte caudale
SNr: substantia nigra pars reticulata
EEG: elettroencefalogramma
PE: potenziali evocati
LEP: potenziali evocati laser
ACC: corteccia cingolata anteriore
AIC: corteccia insulare anteriore
LT: talamo laterale
MT: talamo mediale
PIC: corteccia insulare posteriore
SI: corteccia somatosensoriale primaria
SII: corteccia somatosensoriale secondaria
SRT: tratto spinoreticolotalamico
STT: tratto spinotalamico
EOG: elettrooculogramma
DNIC: controllo inibitorio diffuso e nocivo
WRD: neuroni convergenti ad ampio range dinamico
DRt/SRD: nucleo reticolare dorsale/sottonucleo reticolare dorsale
CPM: modulazione condizionata del dolore
NRS: scala di valutazione numerica
HNCS: stimolazione condizionante nocicettiva eterotopica
BL: baseline
post-HNCS: post stimolazione condizionante nocicettiva eterotopica
SD: deviazione standard
ISI: intervallo inter-stimolo

1. INTRODUZIONE

I Disturbi Motori Funzionali (FMD) sono condizioni neurologiche frequenti ed invalidanti. Rappresentano circa il 50% dei Disturbi Neurologici Funzionali e si caratterizzano per un controllo motorio anomalo, che si manifesta con una vasta gamma di sintomi, spesso associati a una marcata disabilità. Questi disturbi infatti possono essere gravi e invalidanti, compromettendo la qualità della vita dei pazienti, con una prognosi spesso sfavorevole.

La diagnosi di questi disturbi è clinica, basata sulla dimostrazione dei segni di inconsistenza ed incongruenza, talvolta corroborata dalla neurofisiologia, sebbene non esistano biomarcatori definiti per la diagnosi o la prognosi.

Alcuni studi, seppur con un campione di piccole dimensioni, hanno evidenziato alterazioni nella Prepulse Inhibition (PPI), valutata tramite il Blink Reflex, e nel pathway nocicettivo discendente, misurato attraverso i Potenziali Evocati Laser (LEP), nei pazienti affetti da FMD.

Questo studio si inserisce in un progetto più ampio che mira a identificare marker clinici, di neuroimaging, comportamentali e neurofisiologici utili per la diagnosi e la prognosi dei Disturbi Motori Funzionali. In particolare, l'obiettivo dello studio è confermare su un ampio campione se il CPM e la PPI possono essere considerati marker per diagnosticare i Disturbi Motori Funzionali.

1.1. Disturbi Motori Funzionali

I Disturbi Motori Funzionali sono condizioni neurologiche frequenti caratterizzate da un controllo motorio anomalo che si manifesta con movimenti ipercinetici (es. tremore, distonia, mioclono), ipocinetici (es. parkinsonismo) o debolezza muscolare.

Nel corso del tempo, sono stati descritti con diversi termini, tra cui disturbi psicogeni, di conversione, di somatizzazione, isterici e non organici. La mancanza di una definizione universalmente condivisa riflette le lacune nella comprensione della fisiopatologia di questi disturbi e il limitato interesse che hanno suscitato in passato, sia in ambito clinico che in ricerca [1].

I pazienti che soffrono di tali disturbi possono sperimentare un grado di disabilità e una riduzione della qualità della vita simili a quelli osservati nei pazienti con malattie organiche, come la Malattia di Parkinson [1].

Si stima che i disturbi neurologici funzionali interessino approssimativamente 50 persone su 100.000; il range di esordio è tra i 31 e i 62 anni.

A causa dell'elevata prevalenza e del loro impatto significativo sulla disabilità, negli ultimi anni la comunità scientifica ha manifestato un interesse crescente per questo ambito della neurologia. Inoltre, la gestione dei pazienti affetti da FMD impone costi rilevanti al Sistema Sanitario Nazionale (SSN) senza garantire servizi specifici volti a migliorare la qualità della vita di questi pazienti [1, 2].

I pazienti affetti da FMD non presentano un chiaro danno o una malattia definita del sistema nervoso e questo provoca una difficoltà per il neurologo nel comprendere il meccanismo di produzione dei sintomi.

I disturbi di origine funzionale sono dovuti a un problema reversibile di funzionamento del sistema nervoso; quindi, un disturbo del movimento funzionale può migliorare o anche scomparire totalmente autonomamente.

Tali disturbi possono essere notevolmente influenzati da manovre di distrazione o da trattamenti non convenzionali, come il placebo; per queste ragioni si è erroneamente creduto che questi disturbi fossero simulati. Di conseguenza, i disturbi funzionali del movimento sono spesso non adeguatamente diagnosticati e trattati.

I pazienti con FMD percepiscono questi sintomi come involontari; vi è quindi una dissociazione tra la natura volontaria dei sintomi e la percezione di mancanza di controllo (per un'alterazione del "Sense of Agency", ossia percezione del controllo sulle azioni e sulle loro conseguenze).

In passato i Disturbi Motori Funzionali sono stati associati anche a traumi emotivi-psicologici (i cosiddetti *disturbi di conversione*), ma recenti studi epidemiologici hanno messo in dubbio il ruolo centrale di questi fattori [1, 3].

Il termine attualmente utilizzato "funzionale" vuole indicare un disturbo neurologico di cui non si conosce la causa, senza presupporre alcuna ipotesi eziologica. Tale definizione vuole porre l'accento sul fatto che questi pazienti hanno sintomi e segni che non sono riscontrabili in altri disturbi del movimento.

1.1.1. Caratteristiche cliniche

I pazienti con FMD spesso manifestano più sintomi contemporaneamente, questo complica l'inquadramento clinico-diagnostico e il trattamento.

Secondo i dati del Registro dei Disturbi Motori Funzionali, il sintomo più comune è la paresi, presente nel 43% dei pazienti, seguito da tremore (40%), distonia (28%) e disturbi della marcia (26%).

Sintomi meno frequenti includono il mioclono (13%), i disordini del movimento nel distretto facciale (10%), il parkinsonismo (6%) e i tic (2%). Nel 53% dei casi sono presenti sintomi sensoriali funzionali, mentre nel 30% sono crisi pseudo-epilettiche [1].

Inoltre, circa il 27% dei pazienti affetti da FMD manifesta comorbidità neurologiche, come la cefalea, che rappresenta il 24% dei casi, e le neuropatie, il 10%. Altre comorbidità neurologiche, quali epilessia, parkinsonismo, ictus e sclerosi multipla, si osservano in una percentuale variabile tra il 5% e il 7% dei pazienti [1].

La paresi funzionale è caratterizzata spesso da un esordio improvviso associato a una perdita di forza in un arto descritta dal paziente come debolezza, difficoltà nel camminare o sensazione di "pesantezza" in una parte del corpo. Possono anche percepire l'arto come estraneo al proprio corpo. Tale disturbo non è causato da danni o malattie del sistema nervoso; quindi, i sintomi possono migliorare o scomparire rapidamente con opportune manovre.

Nei pazienti affetti da paresi o paralisi funzionale, le indagini neuroimaging e altre procedure diagnostiche risultano generalmente normali. Anche quando i risultati degli esami indicano una distribuzione della debolezza compatibile con disturbi di natura organica, si può osservare l'assenza di alterazioni dei riflessi o di altri segni tipici di patologie neurologiche organiche.

Alcune manovre specifiche (ad esempio, il test del segno di Hoover e il test del segno dell'abduzione del V dito) possono dimostrare l'integrità delle strutture nervose e fornire segni di non costanza dei sintomi.

Alcuni di questi pazienti possono presentare forza relativamente normale durante la visita medica, ma manifestare una perdita di tono muscolare quando cercano di eseguire il movimento, mentre in altri casi può verificarsi il contrario. La variabilità sintomatica può essere un elemento importante nella diagnosi di disturbi funzionali [1].

Il tremore funzionale solitamente si presenta con un esordio acuto e può avere periodi di remissione spontanea. Tipicamente, colpisce gli arti superiori, in particolare le dita, e spesso si manifesta con una combinazione di tre tipi di tremore: a riposo, posturale e intenzionale.

La caratteristica principale dei pazienti con questo disturbo è la distraibilità, evidenziata durante l'anamnesi e l'esecuzione di compiti mentali (come calcoli aritmetici, identificazione di numeri o lettere) e motori (ad esempio, il tapping a diverse frequenze o movimenti di precisione).

Le indagini neurofisiologiche possono essere utili per la diagnosi, mostrando una sensibilità e specificità elevate [1, 2].

La distonia funzionale è caratterizzata da contrazioni muscolari intermittenti, torsioni e scatti, più comune agli arti.

Rispetto alla distonia organica, la funzionale è generalmente fissa e spesso associata a dolore.

La distraibilità è difficile da dimostrare, ma alcuni pazienti possono mostrare variazioni dell'intensità della postura anomala a seconda del contesto.

Il contributo della neurofisiologia clinica alla diagnosi della distonia funzionale risulta ancora limitato. Tuttavia, recenti studi hanno rivelato alcune somiglianze elettrofisiologiche tra la distonia organica e quella funzionale. In particolare, sono state osservate alterazioni simili nei circuiti inibitori motori a livello corticale e spinale, sia nelle aree corporee colpite dalla distonia che in quelle non direttamente coinvolte. Inoltre, sono emerse analoghe modifiche nell'elaborazione temporale degli stimoli sensoriali, che si riscontrano sia nella distonia funzionale che in quella organica. Nei pazienti con distonia funzionale, soprattutto di tipo fisso, si notano alterazioni nella tolleranza al dolore, sebbene non nella soglia del dolore [1, 2].

I disturbi funzionali della marcia presentano diverse caratteristiche distintive: generalmente si manifestano difficoltà nel mantenere una postura eretta e nel camminare. Inoltre, le posture adottate possono compromettere ulteriormente l'equilibrio, come nel caso della riduzione della base di appoggio [1].

1.1.2. Fisiopatologia

Negli ultimi anni molteplici ricerche hanno indagato i meccanismi fisiopatologici alla base dei disturbi del movimento funzionali. Tra i risultati più rilevanti, è emerso il ruolo fondamentale dell'attenzione visiva rivolta verso la zona corporea interessata, specialmente nei pazienti con tremore funzionale, suggerendo che l'attenzione giochi un ruolo chiave nella manifestazione di tali sintomi.

Le analisi di neuroimaging funzionale, inoltre, hanno rivelato una ridotta attivazione della giunzione temporo-parietale durante il tremore nei pazienti, un'area cruciale per l'integrazione delle informazioni sensoriali e dell'aspettativa. È stata anche osservata una connettività alterata tra le aree motorie, coinvolte nella preparazione del movimento, e le strutture limbiche come l'amigdala, sia durante l'azione motoria, che in risposta a stimoli emotivi.

Si sospetta che un'alterazione delle aspettative possa rappresentare un fattore scatenante per i disturbi del movimento funzionali, con possibili cause come traumi psicologici, interventi chirurgici, lesioni fisiche, anestesia generale, infezioni ed effetti collaterali di farmaci [1].

1.1.3. Diagnosi e trattamento

Nel 1988, Fahn e Williams hanno introdotto i primi criteri diagnostici per i disturbi del movimento funzionali, focalizzandosi sull'inconsistenza e sull'incongruenza dei sintomi, nonché sull'effetto del placebo.

L'inconsistenza si manifesta nella variabilità dei sintomi, che tendono a migliorare con la distrazione e a peggiorare con l'attenzione. Questa variabilità è osservabile durante l'esame clinico, dove i sintomi possono comparire o scomparire in base al contesto dell'osservazione.

Successivamente, nel 2006, Shill e Gerber hanno proposto un sistema diagnostico suddiviso in tre categorie (clinicamente definita, probabile e possibile), basato su criteri primari (incongruenza con malattia organica, dolore eccessivo o eccessiva sensibilità, esposizione a modelli di malattia, guadagno secondario) e criteri secondari (sommazioni multiple, presenza di malattia psichiatrica manifesta).

Nel 2009, Gupta e Lang hanno suggerito una revisione di queste categorie, proponendo una “*diagnosi di 'Definito - supportato dal laboratorio' nel caso in cui l'elettrofisiologia dimostri segni neurofisiologici suggestivi (in particolare per il tremore funzionale e il mioclono funzionale)*” [1, 2].

Uno studio recente ha esaminato l'affidabilità diagnostica basata esclusivamente sulla fenomenologia, utilizzando i criteri di Fahn-Williams e Shill-Gerber. I risultati hanno mostrato una scarsa validità diagnostica quando si considerano solo i sintomi clinici, mentre l'affidabilità migliora significativamente quando si integrano i dati anamnestici raccolti attraverso una griglia predefinita. Inoltre, l'accordo diagnostico era particolarmente debole per le categorie "probabile" e "possibile" in entrambi i sistemi di classificazione [1].

La fase iniziale del trattamento prevede una comunicazione chiara e tempestiva della diagnosi al paziente. Comunicare la diagnosi in tempi rapidi ha un impatto significativo sulla prognosi e sul percorso di cura del paziente.

Il trattamento riabilitativo segue la comunicazione della diagnosi. Durante tale fase è fondamentale il “riorientamento del movimento”, il cui obiettivo è riformulare il movimento in modo graduale,

orientando l'attenzione e affrontando convinzioni e comportamenti disfunzionali. Inoltre, è molto importante la fase di autogestione, ovvero il paziente deve eseguire un piano personalizzato di esercizi a domicilio [1].

Gli aspetti psicologici sono particolarmente rilevanti. La terapia cognitivo-comportamentale (TCC) è considerata una delle più efficaci, specialmente se combinata con la riabilitazione.

La TCC mira a modificare i pensieri e i comportamenti legati ai sintomi, insegnando al paziente a riconoscere i segnali premonitori degli attacchi e ad applicare tecniche distrattive (come contare all'indietro, parlare con qualcuno o cantare) per prevenirli o gestirli.

Inoltre, il trattamento psicologico è cruciale anche in presenza di comorbidità come ansia e depressione [1, 4, 5].

Il trattamento farmacologico può essere associato alle precedenti fasi di trattamento e può includere antidepressivi per i sintomi ansiosi o depressivi [1].

1.2 Blink Reflex

Gli esami elettrofisiologici di routine per la valutazione dei nervi cranici e dei loro segmenti prossimali sono limitati, ad eccezione dei potenziali evocati visivi e del tronco encefalico. È possibile esaminare i nervi cranici V (trigemino) e VII (facciale), insieme alle loro connessioni nel ponte e nel midollo, mediante l'utilizzo del Blink Reflex [6].

Il Blink Reflex, noto anche come riflesso trigemino-facciale, è un esame elettrofisiologico che valuta la via nervosa responsabile di uno dei riflessi più primitivi nell'essere umano, il riflesso di ammiccamento. Questo riflesso è uno dei più istintivi, rivestendo un ruolo cruciale nella protezione e nella conservazione della specie [7].

L'analisi del riflesso di ammiccamento costituisce uno strumento diagnostico utile per identificare anomalie sia nelle vie nervose periferiche che in quelle centrali. Infatti, questa indagine permette di rilevare neuropatie o lesioni compressive che interessano i nervi facciale o trigemino a livello periferico, così come lesioni centrali nel tronco encefalico (associate a ictus o sclerosi multipla) [6].

1.2.1 Anatomia e Fisiologia

L'arco riflesso, che viene indagato da tale metodica elettrofisiologica, è composto da una componente afferente sensoriale (fibre del nervo trigemino), sinapsi intermedie (con i nuclei dei nervi cranici a livello del tronco encefalico) e una risposta efferente motoria (fibre del nervo facciale).

Il nervo trigemino (V nervo cranico) è il più grande tra i nervi cranici. È un nervo misto, caratterizzato principalmente da una funzione sensoriale, con una componente motoria di minore entità. Le fibre sensoriali trasmettono le sensazioni tattili, termiche e dolorose provenienti dal volto, dalla mucosa orale e dalla porzione anteriore del cuoio capelluto. La componente motoria, invece, controlla i muscoli della masticazione e alcuni muscoli del palato e del timpano.

All'interno della fossa cranica media, precisamente nel ganglio di Meckel, vicino al ponte del tronco encefalico, il nervo trigemino si divide in tre rami principali: oftalmico, mascellare e mandibolare.

Le fibre del V nervo cranico responsabili della percezione tattile hanno i loro corpi cellulari localizzati nel ganglio di Gasser. I loro rami prossimali entrano nella porzione laterale del ponte e ascendono verso il nucleo sensoriale principale. Anche le fibre coinvolte nella percezione del dolore e della temperatura hanno i corpi cellulari nel ganglio di Gasser; tuttavia, una volta entrate nel ponte, queste fibre discendono per raggiungere il nucleo spinale del nervo trigemino.

Per l'esecuzione del Blink Reflex viene attivato, tramite stimolazione elettrica, il ramo afferente sovraorbitario della divisione oftalmica del nervo trigemino [8].

Il nervo facciale (VII nervo cranico) è un nervo misto, contenente sia fibre motorie che sensoriali; ha come principale funzione l'innervazione dei muscoli facciali responsabili delle espressioni, il trasporto delle sensazioni gustative provenienti dai due terzi anteriori della lingua e l'innervazione delle ghiandole lacrimali, sottomandibolari e sottolinguali.

Il VII nervo cranico origina dal nucleo del nervo facciale, situato nel ponte del tronco encefalico, ed emerge dalla superficie anteriore di quest'ultimo, attraversando il meato acustico interno assieme al nervo vestibolococleare (VIII nervo cranico).

Il nervo facciale procede attraverso il canale facciale (o canale di Falloppio) all'interno dell'osso temporale, per uscire dal cranio tramite il forame stilomastoideo. All'esterno del cranio si suddivide nei suoi rami terminali: temporale, zigomatico, buccale, marginale della mandibola e cervicale. Tali diramazioni innervano i muscoli del volto; in particolare, i rami temporale e zigomatico innervano il muscolo orbicolare dell'occhio (OOc), punto di registrazione più comune delle risposte evocabili col Blink Reflex [8].

1.2.2 Le risposte

La stimolazione elettrica del ramo sovraorbitario del nervo trigemino induce una risposta bilaterale del nervo facciale, che si manifesta come un battito delle palpebre. Quando il nervo sovraorbitario viene stimolato, il segnale afferente si propaga lungo il nervo trigemino ipsilaterale al lato stimolato, fino a raggiungere sia il nucleo sensitivo principale (nel ponte medio) che il nucleo del tratto spinale del V nervo cranico (localizzato nel ponte inferiore e nel midollo). L'impulso viene quindi trasmesso attraverso una rete di interneuroni che si estende nel ponte e nel midollo, raggiungendo infine i nuclei facciali ipsilaterali e controlaterali, dai quali ha origine il segnale efferente che viaggia bilateralmente lungo il nervo facciale [6].

Questo complesso circuito, non ancora completamente compreso, produce due risposte principali a seguito della stimolazione elettrica: una risposta R1 precoce e una risposta R2 tardiva. La risposta R1 si manifesta tipicamente sul lato ipsilaterale rispetto alla stimolazione, mentre la risposta R2 è generalmente bilaterale. Si ritiene che la risposta R1 rifletta una via riflessa bisinaptica che collega il nucleo sensitivo principale del V nel ponte medio al nucleo facciale ipsilaterale nel tegmento pontino inferiore. Invece, le risposte R2 sono mediate da una via polisinaptica che coinvolge il nucleo del tratto spinale del V, situato nel ponte e nel midollo, e gli interneuroni che connettono i nuclei facciali ipsilaterali e controlaterali [6].

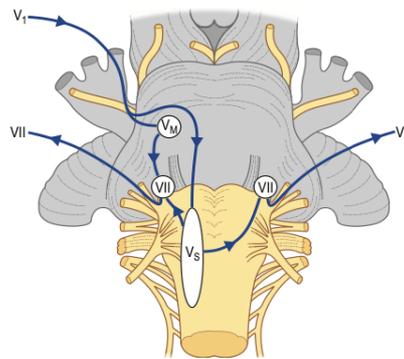


Figura 1. Anatomia del Blink Reflex. La via afferente del riflesso è mediata dalla prima divisione del nervo trigemino (V1), che fa sinapsi sia con il nucleo sensoriale principale del nervo cranico V (*Vm*) nel ponte medio e con il nucleo del tratto spinale del nervo cranico V (*Vs*) nel midollo. (Tratto da D. C. Preston, B. E. Shapiro, “*Electromyography and Neuromuscular Disorders*”).

La risposta R1 è generalmente stabile e riproducibile, presentando una morfologia bifasica o trifasica. Al contrario, le risposte R2 sono polifasiche e mostrano una notevole variabilità tra una stimolazione e l'altra, tendendo ad abituarsi se vengono somministrate stimolazioni ravvicinate [6, 7].

Data la stabilità della risposta R1, la sua latenza può essere facilmente identificata nel punto in cui sorge dalla linea di base con una deflessione positiva o negativa. La misurazione delle latenze R2, invece, è più complessa, poiché il potenziale varia in latenza e morfologia ad ogni stimolazione. La latenza viene quindi selezionata manualmente a seguito della sovrapposizione delle tracce, posizionando il cursore sulla deflessione più precoce delle risposte registrate [6, 7].

La latenza della risposta R1 riflette il tempo di conduzione lungo le fibre più veloci della via afferente dal nervo trigemino ipsilaterale al nucleo sensitivo principale del Vm nervo cranico, passando attraverso le vie bisinaptiche nel ponte fino al nucleo del nervo facciale e proseguendo lungo la via efferente del nervo facciale ipsilaterale.

La latenza della risposta R2 misura il tempo di conduzione lungo le fibre più veloci della via afferente dal nervo trigemino omolaterale al nucleo del tratto spinale del Vs, attraversando molteplici sinapsi nel ponte e nel midollo fino ai nervi facciali ipsilaterale e controlaterale [6].

1.2.3 Procedimento del test electroneurografico

Il test elettrofisiologico del Blink Reflex deve essere registrato con il paziente in posizione supina sul lettino e in uno stato di completo rilassamento, con gli occhi aperti o leggermente socchiusi.

L'attivazione dell'arco riflesso avviene stimolando il nervo sovraorbitario (ramo della divisione oftalmica del nervo trigemino), con lo stimolatore collocato nella fessura orbitaria superiore. Il punto di stimolazione si trova sopra la cresta sovraorbitaria mediale, in corrispondenza di una leggera depressione nella cresta ossea al di sopra del sopracciglio [6, 8].

Per ottenere una risposta ottimale, l'impulso elettrico deve avere una durata di 100 ms. L'intensità di stimolazione deve essere sovramassimale, ossia tale da produrre risposte con latenze più brevi e ampiezza massima, che non aumentano ulteriormente con l'incremento dell'intensità dello stimolo.

Per individuare l'intensità sovramassimale, la corrente viene aumentata gradualmente (di 3-5 mA a stimolo) a partire da 0 mA. In genere, non sono necessari più di 15-25 mA per raggiungere una stimolazione sovramassimale. Una volta identificata tale intensità, si registrano da quattro a sei risposte, che vengono sovrapposte su un tracciato per determinare la latenza più breve [6].

La registrazione viene effettuata simultaneamente su entrambi i lati del viso utilizzando un dispositivo di registrazione a due canali.

L'impulso elettrico genera la depolarizzazione delle fibre afferenti del nervo cranico V, che attraverso diverse sinapsi a livello del tronco encefalico, attiva le fibre efferenti del VII nervo cranico, determinando la contrazione di vari muscoli facciali, incluso l'orbicolare dell'occhio [6, 8].

Per ottenere la registrazione del potenziale d'azione muscolare composto (CMAP) dal muscolo orbicolare dell'occhio, l'elettrodo attivo pregellato deve essere posizionato bilateralmente (previa pulizia della cute con alcool e pasta sgrassante per ottenere le impedenze inferiori a 5 k Ω), lateralmente e inferiormente rispetto alla pupilla in posizione centrale; gli elettrodi di riferimento sono collocati lateralmente al canto dell'occhio.

In alternativa agli elettrodi di superficie, si possono utilizzare piccoli elettrodi ad ago concentrici. L'elettrodo di terra, essenziale per minimizzare gli artefatti di stimolazione e dissipare eventuali correnti di dispersione, può essere collocato a metà della fronte o sul mento [6].

Le latenze tipiche delle risposte R1 e R2 sono rispettivamente di 10-12 ms e 30-40 ms; quindi, è opportuno visualizzare le risposte con una velocità di scansione di 5 o 10 ms/D. Inoltre, data la bassa ampiezza delle risposte, è opportuno impostare la sensibilità a 100 o 200 μ V/D [8].

Per rimuovere eventuali attività artefattuali indesiderate, si utilizzano filtri incorporati nell'amplificatore. Nella pratica clinica, si impiegano tre tipi di filtri: 1) filtro passa-alto (*high-pass filter*) per attenuare le basse frequenze; 2) filtro passa-basso (*low-pass filter*) per ridurre le alte frequenze, come quelle generate dall'attività muscolare del paziente; e 3) filtro notch, utilizzato per eliminare la componente a 50/60 Hz dovuta alla contaminazione del segnale dalla corrente alternata della rete elettrica. Pertanto, sulla base di queste considerazioni, il range delle frequenze ottimale è tra 10 Hz e 10 kHz [6].

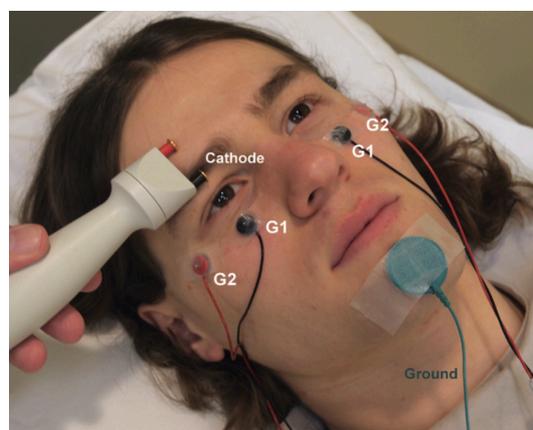


Figura 2. Montaggio degli elettrodi per registrare le risposte R1, R2 e R2c del Blink Reflex (Tratto da D. C. Preston, B. E. Shapiro, “*Electromyography and Neuromuscular Disorders*”).

1.2.4 Artefatti e limiti della metodica

Le risposte evocate dal Blink Reflex possono essere influenzate da diverse alterazioni del segnale. L'artefatto più significativo è l'artefatto muscolare, generato dall'attività muscolare dei muscoli facciali del paziente. Questo tipo di attività, caratterizzata da frequenza e ampiezza elevate, viene registrata dagli elettrodi e può mascherare le risposte R1 e R2, rendendo difficile identificare con precisione l'onset dei segnali. Per minimizzare tale interferenza, è essenziale che il paziente sia completamente rilassato durante la registrazione. Un utile accorgimento consiste nell'aumentare il volume dell'altoparlante, fornendo così un feedback uditivo al paziente, che favorisce il rilassamento muscolare, riducendo il rumore di fondo [8].

Un limite rilevante di questa metodica è la suscettibilità della risposta R2 al fenomeno dell'abituazione. Questo effetto si verifica a causa dell'elevato numero di sinapsi coinvolte nella via che genera la risposta e della sua sensibilità alle influenze sovra-segmentarie. Per mitigare questo problema, è consigliabile attendere alcuni secondi tra una stimolazione e l'altra [6].

1.3 Prepulse Inhibition

La Prepulse Inhibition (PPI) è un fenomeno neurofisiologico in cui un debole stimolo sensoriale, definito Prepulse, riduce l'ampiezza della risposta generata da uno stimolo successivo più intenso. Questo effetto riflette una fase iniziale dei processi attentivi, operando a livello subcorticale e al di fuori della consapevolezza cosciente, probabilmente attraverso il reindirizzamento dell'attenzione verso l'input sensoriale generato dal Prepulse stesso [9].

La PPI è particolarmente evidente nel riflesso dell'ammicciamento, dove un Prepulse uditivo o sensoriale inibisce diverse componenti del riflesso, a seconda del tempo che intercorre tra i due stimoli. L'efficacia di questa inibizione è influenzata da strutture cerebrali superiori, come i gangli della base, che svolgono un ruolo cruciale anche in disturbi neurologici come il Parkinson e la distonia [10-12].

Studi condotti su animali hanno identificato diversi circuiti neurochimici e anatomici essenziali per la regolazione della Prepulse Inhibition (PPI). Tra le principali strutture coinvolte in questo processo ci sono la corteccia prefrontale, il talamo, l'amigdala, il nucleo striato e il nucleo accumbens. Inoltre, sono state individuate strutture chiave specifiche per la PPI, come il nucleo tegmentale peduncolopontino (PPTg), il nucleo reticolare del ponte caudale (nRPC) e la substantia nigra pars reticulata (SNr). Queste strutture lavorano in sinergia per modulare l'inibizione della risposta riflessa,

evidenziando l'importanza di circuiti complessi e di specifiche aree cerebrali nella regolazione dell'elaborazione sensoriale e dell'attenzione.

L'inibizione della Prepulse è quindi un metodo importante per valutare l'integrazione degli input sensoriali a livello sottocorticale. Le anomalie in questo processo sono spesso riscontrate in disturbi dei gangli della base, sottolineando la sua rilevanza clinica [11].

1.4 Potenziali Evocati Laser

Nel 1924, Hans Berger identificò la presenza di onde elettriche corticali rilevabili attraverso il cuoio capelluto. Questa attività elettrica può essere classificata in due categorie principali: l'attività spontanea, come la corticale registrata dall'elettroencefalogramma (EEG), e l'attività evocata, rappresentata dai potenziali evocati (PE). Entrambe queste attività derivano dai potenziali elettrici generati dalle cellule del sistema nervoso centrale, principalmente nella corteccia cerebrale e in alcune aree sottocorticali, in risposta a vari stimoli afferenti. Questi potenziali elettrici fluttuanti si combinano e vengono trasmessi attraverso il cuoio capelluto, dove possono essere registrati tramite elettrodi specifici [13].

I potenziali evocati sono caratterizzati da un'ampiezza notevolmente inferiore rispetto all'attività elettrica corticale. Pertanto, per poter registrare le risposte corticali dei PE è necessario estrapolare i segnali dall'EEG; questo avviene grazie alla tecnica di "average". L'average prevede la mediazione di diverse epoche di attività elettrica registrata, sincronizzate con lo stimolo che evoca il potenziale. La mediazione consente di isolare l'attività del potenziale evocato, poiché questo segue un modello ripetitivo, mentre il segnale EEG di base è casuale e tende ad annullarsi se mediato [13].

Il numero di epoche necessarie per far emergere il potenziale evocato dal rumore di fondo dipende dal rapporto tra l'ampiezza del segnale e il rumore, noto come rapporto segnale/rumore (S/N RATIO). Questo rapporto è proporzionale alla radice quadrata del numero di conte (\sqrt{n}). Pertanto, un potenziale evocato di piccola ampiezza richiede un elevato numero di risposte che devono essere mediate per estrarre il segnale dal rumore di fondo [13].

I potenziali evocati possono essere classificati principalmente in due categorie: esogeni (o stimolo-correlati) ed endogeni (o evento-correlati). I potenziali evocati esogeni sono generati da stimoli esterni, caratterizzati da una modalità specifica, e riflettono le proprietà fisiche dello stimolo stesso. Al contrario, i potenziali evocati endogeni dipendono dal contenuto informativo dell'evento e dalla risposta cerebrale a tale contenuto [13].

I Potenziali Evocati Laser (LEP), sviluppati negli anni '70, rappresentano una tipologia di potenziale evocato stimolo-correlato. I LEP permettono di analizzare la trasmissione dello stimolo nocicettivo lungo le piccole fibre nervose (C e A δ), basandosi sulla risposta registrata a livello corticale [14].

Grazie ai LEP è possibile stimolare le terminazioni nervose cutanee mediante impulsi laser, che provocano una sensazione di dolore. Gli impulsi laser sono in grado di attivare selettivamente le fibre nocicettive, trasmettendo segnali dolorosi al Sistema Nervoso Centrale (SNC). Le risposte elettriche generate nel SNC sono monitorate attraverso elettrodi applicati sul cuoio capelluto del paziente [14].

I LEP sono procedura non invasiva, particolarmente utile per lo studio e la valutazione di condizioni associate al dolore cronico, come neuropatia periferica, fibromialgia, emicrania cronica e altre forme di dolore neuropatico. Questo perché forniscono informazioni dettagliate sulla percezione del dolore, contribuendo così alla comprensione e alla gestione delle condizioni dolorose [15].

1.4.1 Anatomia e Fisiologia

La via nocicettiva, che gestisce la trasmissione degli stimoli dolorosi, è organizzata in una catena di tre ordini di neuroni che conducono l'informazione dal sito di origine periferico fino alla corteccia cerebrale.

I neuroni di primo ordine, il cui corpo cellulare si trova nei gangli delle radici dorsali del midollo spinale o nei gangli dei nervi cranici, captano gli stimoli nocivi dalle terminazioni nervose periferiche situate in tessuti come pelle, muscoli e articolazioni. Questi stimoli vengono trasmessi al midollo spinale tramite le fibre nervose A δ e C. All'interno del midollo spinale, i neuroni di primo ordine stabiliscono sinapsi nel corno dorsale con i neuroni di secondo ordine [16].

I neuroni di secondo ordine, localizzati principalmente nel corno dorsale del midollo spinale, ricevono e trasmettono l'impulso nocicettivo attraverso i tratti spino-talamico (STT) e spino-retino-talamico (SRT). Questi tratti decussano a livello del midollo spinale e poi ascendono fino al talamo, che funge da importante centro di smistamento per l'informazione sensoriale [16].

Dal talamo, i neuroni di terzo ordine proiettano verso la corteccia somatosensoriale primaria situata nel lobo parietale del cervello, dove l'informazione dolorosa viene percepita e interpretata. Oltre a consentire la localizzazione e la valutazione dell'intensità del dolore, questa via è coinvolta nella risposta emotiva e comportamentale allo stimolo doloroso, grazie alle sue connessioni con altre strutture del sistema nervoso centrale, come il sistema limbico [16].

Il sistema nocicettivo si suddivide in due vie principali, ognuna delle quali è specializzata nella trasmissione di aspetti distinti del dolore:

- Via Laterale: questa via include i nuclei talamici laterali e le corteccie somatosensoriali, in particolare le parietali inferiori. È responsabile della trasmissione delle caratteristiche sensoriali del dolore, come la localizzazione, la durata, l'intensità e la qualità dell'input nocicettivo;
- Via Mediale: comprende i nuclei talamici mediali, la parte anteriore dell'insula, il polo frontale e la corteccia cingolata anteriore (ACC). Questa via gestisce gli aspetti affettivo-motivazionali del dolore, come la risposta emotiva e la motivazione ad agire in risposta al dolore.

In dettaglio, il tratto spinoretinotalamico (SRT) proietta esclusivamente ai nuclei talamici mediali attraverso un ulteriore stadio sinaptico nella formazione reticolare del tronco cerebrale. Al contrario, il tratto spinotalamico (STT) trasmette le informazioni nocicettive sia ai nuclei talamici laterali che a quelli mediali direttamente dal midollo spinale [16].

I nuclei talamici mediali hanno proiezioni prevalenti verso la corteccia insulare anteriore e la corteccia cingolata anteriore. Invece, il talamo laterale riceve afferenze esclusivamente dal STT e invia proiezioni principali alle corteccie somatosensoriali.

Oltre alla porzione ventromediale rostrale e ventrolaterale caudale di SRT e STT, esiste un'altra struttura anatomica fondamentale per la modulazione e la trasmissione del dolore, ovvero il nucleo reticolare dorsale (DRt, noto anche come SRD: subnucleus reticularis dorsalis). Le tre strutture formano la “triade della formazione reticolare” [17, 18].

1.4.2 Le risposte

Le risposte generate grazie ai LEP sono due: il complesso N1P1 e il complesso N2P2. In particolare, il complesso N1P1 riflette l'attività del sistema laterale, il complesso N2P2 coinvolge sia il sistema mediale che il laterale [17].

Il complesso N2P2 origina dai nuclei mediali del talamo (MT), che ricevono afferenze dal tratto spinoreticolotalamico. Questi nuclei inviano segnali alla corteccia cingolata anteriore e alla corteccia insulare anteriore. La componente N2 è principalmente attribuita all'attività dell'insula, mentre la componente P2 è associata alla corteccia cingolata anteriore.

Il complesso N1P1, invece, origina dai nuclei laterali del talamo (LT), che ricevono informazioni dal tratto spino-talamico e proiettano alla corteccia somatosensitiva secondaria (SII) e alla corteccia insulare posteriore (PIC) [17].

Pertanto, il complesso N2P2 è indicativo della risposta affettiva ed emotiva al dolore, mentre il complesso N1P1 rappresenta gli aspetti sensoriali e discriminativi degli stimoli dolorosi.

Nel valutare le risposte ai LEP, si considerano principalmente l'ampiezza e la latenza.

Le risposte corticali raggiungono il picco tra 150 e 300 millisecondi dopo l'applicazione dello stimolo. La risposta più precoce, l'onda N160, è negativa e di maggiore ampiezza nella regione parieto-temporale opposta alla stimolazione, seguita da una risposta simile ma omolaterale con latenza più lunga (N190).

Nella regione fronto-centrale mediana, invece, si osservano due flessioni più tardive: la prima negativa (N210) e la seconda positiva (P290), che insieme costituiscono il complesso N2-P2. Le risposte sono di piccola ampiezza, infatti sono espresse in μV .

Tendenzialmente il complesso N1P1 è una risposta meno stabile e riproducibile rispetto al complesso N2P2, nonché di ampiezza inferiore [17].

1.4.3 Procedimento del test elettroencefalografico

I Potenziali Evocati Laser devono essere registrati con il paziente in posizione supina sul lettino e in uno stato di completo rilassamento. Per valutare il sistema nocicettivo, si possono utilizzare stimoli laser di diverso tipo, ognuno con caratteristiche specifiche:

- Laser CO₂: è caratterizzato da una radiazione che viene quasi completamente assorbita dalla pelle, dato che la sua riflettanza è trascurabile. Gli stimoli termici prodotti attivano i nocicettori situati negli strati più profondi della pelle;
- Laser Argon: la radiazione viene parzialmente assorbita dalla pelle, la risposta risulta avere una latenza maggiore poiché lo stimolo ha una durata prolungata;
- Laser Thulium YAG: con una lunghezza d'onda inferiore rispetto al laser CO₂, questo tipo evita un rapido aumento della temperatura, consentendo una penetrazione più profonda senza causare bruciature. La latenza dei potenziali evocati è ridotta e non ci sono effetti collaterali significativi, come eritema o variazioni temporanee del colore della pelle [19].

Il laser viene applicato attraverso una sonda specifica e genera due componenti sensoriali: una sensazione di puntura di spillo, associata all'attivazione delle fibre $A\delta$, e una sensazione di bruciore, legata alle fibre C. Lo stimolo laser attiva principalmente le fibre $A\delta$.

Lo stimolo viene generalmente applicato sul dorso delle mani o dei piedi, a seconda delle fibre nervose da valutare. È fondamentale spostare la sonda dopo ogni applicazione per prevenire il rischio di bruciature della pelle.

Per assicurare una stimolazione completa delle fibre nocicettive, l'intensità dello stimolo deve essere almeno doppia rispetto alla soglia sensitiva del paziente. La durata dello stimolo può variare tra 5 e 50 millisecondi, mentre lo spot del laser deve avere un diametro compresa tra 3 e 9 mm, a seconda della dimensione dello spot si possono stimolare più selettivamente le fibre $A\delta$ o le C [15].

Per registrare le risposte, si utilizzano elettrodi a coppetta (Ag-AgCl a disco) posizionati secondo il Sistema Internazionale 10-20.

Gli elettrodi devono essere applicati dopo una pulizia accurata dello scalpo con alcol e pasta sgrassante (affinché le impedenze siano inferiori a $5\text{ K}\Omega$) e collocati a livello di Cz, Fz, Pz, sul naso, T3 e T4.

Per monitorare eventuali movimenti oculari o ammiccamenti, che potrebbero interferire con le risposte, è necessario eseguire l'elettrooculogramma (EOG), posizionando ulteriori elettrodi a coppetta sul margine laterale superiore e inferiore dell'occhio, previa pulizia della pelle e fissaggio con cerotti anallergici per garantire impedenze inferiori a $5\text{ k}\Omega$ [15].

Le risposte vengono analizzate attraverso diversi dipoli: Cz-naso, Fz-naso, Pz-naso, T4/Fz e T3/Fz, a seconda del lato di stimolazione (T4 per stimolazione delle fibre dell'emisoma sinistro, T3 per stimolazione delle fibre dell'emisoma destro).

Per quanto descritto precedentemente della trasmissione nocicettiva, è opportuno valutare il complesso N2P2 dal dipolo Cz-naso e il complesso N1P1 dal dipolo T4/T3-Fz, in quanto le risposte hanno maggiore ampiezza rispetto agli altri dipoli.

Le risposte attese si manifestano tra i 150 e i 300 millisecondi; pertanto, è consigliabile impostare una velocità di scansione di 100 ms/D . Data la bassa ampiezza delle risposte, è opportuno settare la sensibilità su $20\text{ }\mu\text{V/D}$ [15].

Per eliminare le attività artefattuali indesiderate, si utilizzano filtri incorporati nell'amplificatore. Il range di frequenze ottimale è compreso tra 0,2 Hz e 100 Hz, a cui si aggiunge il filtro notch (50-60 Hz) [15].

Infine, dato che sono dei potenziali evocati e quindi devono essere estrapolati dall'attività EEG, è necessario eseguire la media di almeno 10 stimoli, assicurandosi che le risposte siano sovrapponibili in almeno due tracce [15].

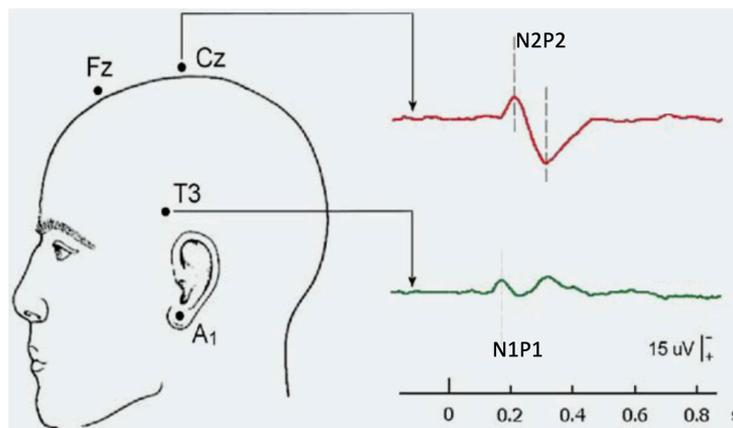


Figura 3. Montaggio degli elettrodi, secondo il Sistema Internazionale 10-20, per registrare i complessi N2P2 e N1P1 dei Potenziali Evocati Laser.

1.4.4 Artefatti e limiti della metodica

Diversi fattori influenzano le risposte ottenute tramite i LEP, tra cui l'età, l'attenzione, la sede di stimolazione, l'altezza, l'abitudine e lo stato psichico di un individuo (soprattutto l'ansia).

L'ampiezza e la soglia dei LEP sono influenzate dalla posizione della stimolazione: le aree più prossimali al tronco nervoso tendono a mostrare una maggiore densità di terminazioni nervose. La stimolazione in zone prossimali riduce la dispersione del segnale lungo la via afferente, generando risposte più ampie grazie alla sommazione spazio-temporale. In particolare, l'ampiezza delle risposte tende a diminuire progressivamente dalla zona periorale verso la mano e poi verso i piedi [14].

La latenza delle risposte, d'altra parte, aumenta progressivamente dalla zona periorale verso i piedi. La latenza è anche correlata all'età e all'altezza del soggetto.

Con l'aumentare dell'età le risposte tendono ad aumentare di latenza, mentre l'ampiezza può ridursi a causa di una diminuzione del numero di neuroni funzionanti nell'area corticale di interesse. Pertanto, l'assenza di LEP negli arti inferiori in un paziente anziano non indica necessariamente una patologia neurologica, poiché sia l'età che la stimolazione a lungo raggio possono influenzare la risposta [14].

L'attenzione del soggetto può amplificare l'ampiezza delle risposte. Per aumentare l'attenzione, è utile chiedere al paziente di valutare ogni stimolo in base al dolore percepito e di eseguire un compito aggiuntivo, come contare il numero di stimoli ricevuti.

Altri fattori che possono ridurre l'ampiezza delle risposte includono l'ansia, l'attivazione muscolare e l'abitudine. Per limitare l'abitudine, è consigliabile intervallare le stimolazioni con brevi pause. Inoltre, la soglia nocicettiva e la percezione del dolore sono influenzate da fattori emotivi, cognitivi, psicosociali e dallo stress.

Generalmente le donne hanno una soglia del dolore più bassa rispetto agli uomini [14].

Alcuni artefatti possibili che possono coprire le risposte sono l'artefatto oculare e di ammiccamento (valutabili grazie all'EOG) e l'artefatto muscolare [15].

1.5 Modulazione condizionata del dolore

Alcune ricerche condotte sugli animali hanno dimostrato che i meccanismi neurofisiologici, inclusi i sistemi modulatori endogeni, noti come controlli inibitori nocicettivi diffusi (DNIC), sono fondamentali per l'effetto "dolore-inibisce-dolore" [20].

La triade della formazione reticolare svolge un ruolo essenziale nella modulazione del dolore.

Il nucleo reticolare dorsale (DRt) rappresenta la principale struttura responsabile del controllo inibitorio nocicettivo diffuso [17, 18].

Alcuni studi hanno dimostrato che stimoli nocicettivi applicati a regioni periferiche del corpo possono diminuire le risposte spinali e cerebrali al dolore o alla stimolazione termica in altre zone corporee [16]. In particolare, il paradigma psicofisico della Modulazione Condizionata del Dolore (CPM) è considerato un protocollo appropriato per riprodurre e applicare i meccanismi del DNIC negli esseri umani [21].

Il CPM prevede che il DNIC venga attivato da una stimolazione nocicettiva eterotopica condizionante (HNCS) trasmessa dalle fibre periferiche A δ e C. Tale stimolazione agisce inibendo i neuroni convergenti ad ampio range dinamico (WDR) presenti nel sistema trigeminale e spinale.

Per valutare l'effetto di inibizione di HNCS, è necessario applicare uno stimolo test che attivi le fibre nocicettive. La risposta al dolore provocata dallo stimolo test può essere valutata sia tramite una scala soggettiva (NRS), sia attraverso cambiamenti dei parametri neurofisiologici [22, 23]. Come descritto

in precedenza, i LEP sono considerati il metodo neurofisiologico più semplice e affidabile per valutare la trasmissione delle vie nocicettive.

Il CPM sembra essere applicato in modo più efficace se la stimolazione nocicettiva eterotopica condizionata e gli stimoli test vengono applicati a due aree corporee distinte e distanti tra loro [24].

2. MATERIALI E METODI

2.1. Obiettivo

Lo studio eseguito per la stesura di tale tesi si inserisce in un progetto più ampio che mira a identificare marker clinici, di neuroimaging, comportamentali e neurofisiologici, utili per la diagnosi e la prognosi dei Disturbi Motori Funzionali.

L'obiettivo è confermare su campione di soggetti sani e di pazienti affetti da FMD, se il CPM e la PPI possono essere considerati marker di malattia per i pazienti con FMD. Questo è possibile analizzando i dati neurofisiologici dei LEP e dei Blink Reflex, valutando se vi è una differenza dell'inibizione del complesso N2P2 (ottenuto tramite i LEP) e dell'area delle risposte R2 e R2c (ottenuta grazie ai Blink Reflex) durante lo stimolo inibitorio tra i soggetti di controllo e i pazienti funzionali. In quanto, una minor riduzione delle risposte neurofisiologiche indica un probabile deterioramento discendente del controllo inibitorio del dolore e dell'elaborazione degli input sensoriali nei soggetti con FMD.

Lo scopo, quindi, è aiutare a sviluppare nuovi strumenti diagnostici per facilitare l'attuale difficile diagnosi dei Disturbi Motori Funzionali.

2.2. Popolazione

Per il presente studio sono stati reclutati 48 partecipanti, suddivisi in due gruppi: 32 soggetti di controllo (SC) e 16 pazienti con diagnosi di Disturbo Motorio Funzionale.

Il gruppo di controllo era composto da 16 soggetti con età superiore ai 35 anni (12 femmine e 4 maschi) e 16 soggetti con età compresa tra i 18 e i 35 anni (12 femmine e 4 maschi).

Il gruppo dei pazienti con FMD includeva 8 soggetti con età superiore ai 35 anni (6 femmine e 2 maschi) e 8 soggetti con età compresa tra i 18 e i 35 anni (6 femmine e 2 maschi).

Un paziente con FMD è stato escluso poiché ha deciso di non proseguire lo studio.

Per essere inclusi nello studio, i partecipanti dovevano avere un'età superiore ai diciotto anni, un punteggio superiore a 24 nel Mini-Mental State Examination, e, nel caso dei pazienti, una diagnosi clinica confermata di FMD, secondo i criteri diagnostici stabiliti da Gupta e Lang [2].

I criteri di esclusione per lo studio includevano i seguenti aspetti:

- la presenza di una disabilità fisica che impediva la firma del consenso informato per la partecipazione;

- la presenza di comorbidità neurologiche e/o psichiatriche documentate (ad esempio, neuropatia e crisi epilettiche);
- controindicazioni all'esecuzione della risonanza magnetica 3T;
- pazienti con tremore, identificati da un punteggio superiore a 2 sulla Tremor Research Group Essential Tremor Rating Assessment Scale (TETRAS);
- presenza di tremore a riposo o altri segni neurologici;
- esposizione, attuale o pregressa, a farmaci noti per indurre tremore;
- presenza di comorbidità note per influenzare il PPI (quali diagnosi certa o sospetta di disturbi dello spettro schizofrenico, sindrome di Tourette, epilessia del lobo temporale con psicosi e/o disturbo ossessivo compulsivo).

Lo studio è stato approvato dal comitato etico e tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato scritto per partecipare allo studio.

In ciascun paziente con FMD, è stato valutato e classificato fenomenologicamente i sintomi motori come debolezza funzionale, tremore, distonia/spasmo, mioclono, disturbi dell'andatura o disturbi del linguaggio.

La Simplified Functional Movement Disorders Rating Scale (s-FMDRS, range 0-54) è stata impiegata per misurare la gravità dei disturbi del movimento funzionali [25]. Questa scala clinica permette una valutazione standardizzata e rapida della gravità dei disturbi del paziente, considerando sia i suoi sintomi clinici, sia l'impatto che essi hanno sulla sua vita quotidiana.

Dall'esame neurologico è risultato che il sintomo FMD predominante era l'ipostenia (81%), seguita dalla distonia (50%) e dalla paresi (44%). Alcuni pazienti hanno riportato come sintomi secondari la presenza di sintomi sensoriali (iperalgisia, disestesia o parestesia) in alcune parti del corpo; tuttavia, nessun paziente presentava deficit sensoriali nell'arto superiore e inferiore destro, luogo di applicazione dello stimolo laser.

La tabella 1 presenta il genere, l'età, i principali sintomi e il punteggio ottenuto con la scala s-FMDRS dei pazienti con disturbi FMD.

<i>PAZIENTE</i>	<i>GENERE</i>	<i>ETÀ (anni)</i>	<i>SINTOMI PRINCIPALI</i>	<i>s-FMDRS</i>
1	M	50	paresi, ipostenia e distonia	11
2	M	57	paresi, ipostenia e distonia	11
3	F	54	paresi, ipostenia e distonia	2
4	F	55	paresi, ipostenia e disturbo della marcia	30
5	F	57	paresi, ipostenia e distonia	14
6	F	48	tremore, ipostenia e distonia	9
7	F	56	ipostenia	3
8	M	34	paresi e ipostenia	23
9	M	34	tremore e distonia	8
10	F	22	paresi, ipostenia e tremore	13
11	F	29	distonia	nv
12	F	21	ipostenia	nv
13	F	25	tremore, ipostenia, disturbo della marcia	16
14	F	28	ipostenia e distonia	12
15	F	57	tremore	4
16	F	32	tremore e ipostenia	22

Tabella I. Caratteristiche cliniche dei pazienti con FMD e rispettivi valori s-FMDRS.
nv: non valutata.

2.3. Prepulse Inhibition e Blink Reflex

Sulla base delle conoscenze della PPI, è stata valutata la PPI della risposta R2 del Blink Reflex in pazienti con disturbo del movimento funzionale clinicamente diagnosticato, confrontandoli con soggetti di controllo sani [26].

Gli esami neurofisiologici sono stati condotti in un ambiente silenzioso e con illuminazione moderata. Sebbene i soggetti siano stati informati sui diversi tipi di stimoli che avrebbero ricevuto, non sono stati avvertiti al momento esatto della stimolazione, per evitare che l'aspettativa potesse influenzare le risposte.

Le registrazioni sono state effettuate utilizzando apparecchiature elettrodiagnostiche Keypoint (Dantec). Il filtro passa alto è stato impostato a 30 Hz e il filtro passa basso a 3.000 Hz, con una frequenza di campionamento pari a 2.000 Hz.

Per valutare le modifiche indotte dallo stimolo Prepulse sull'onda R2 è stato necessario attivare il circuito responsabile del Blink Reflex in due differenti condizioni.

Nella prima condizione è stata registrata la Baseline (BL), ovvero le risposte registrate a seguito dell'attivazione del Blink Reflex. Sono stati quindi somministrati degli stimoli elettrici (impulsi rettangolari a corrente costante della durata di 0,5 ms) al nervo sovraorbitario destro mediante due elettrodi di superficie, con il catodo posizionato al livello della fessura sopraorbitale e l'anodo 3 cm superiormente, lungo il decorso del nervo.

L'intensità dello stimolo è stata scelta pari a dieci volte la soglia sensitiva, definita come l'intensità minima percepita dai soggetti in almeno quattro stimolazioni su otto.

Le risposte sono state registrate seguendo le normative per tale esame precedentemente descritte; pertanto, gli elettrodi di superficie pregelati di 10 mm (previa un'accurata pulizia della cute con alcol e pasta sgrassante) sono stati posizionati a livello dei muscoli orbicolari degli occhi, bilateralmente. In particolare, gli elettrodi attivi sono stati posizionati nel ventre di ciascun muscolo, gli elettrodi di riferimento, invece, sono stati collocati a 2 cm lateralmente al canto esterno di ciascun occhio.

Nella seconda condizione, invece, sono state registrate le risposte R2, ottenute a seguito di uno stimolo inibitorio. Le stimolazioni per evocare la risposta R2 erano le medesime utilizzate durante la stimolazione BL.

Come stimoli Prepulse sono stati scelti degli stimoli elettrici rettangolari a corrente costante della durata di 0,2 ms. Essi sono stati somministrati attraverso elettrodi di superficie posizionati sulla falange distale del dito indice destro, con il catodo collocato 3 cm prossimalmente all'anodo. L'intensità dello stimolo è stata scelta a 1,5 volte la soglia sensoriale del soggetto, definita come l'intensità minima percepita dai soggetti in almeno quattro stimolazioni su otto.

Per poter valutare l'effetto dello stimolo Prepulse sull'onda R2 era necessario somministrare lo stimolo Prepulse 100 ms precedentemente alla stimolazione del nervo sopraorbitario.

Sono state raccolte dieci risposte per ogni condizione, ovvero una stimolazione del nervo sopraorbitario (Baseline) e una stimolazione del nervo sopraorbitario preceduta da una stimolazione del dito indice (Prepulse).

Tra le dieci risposte registrate, sono state selezionate off-line le sei migliori, le quali sono state mediate e rettificate per ottimizzare la valutazione della risposta R2. Questo numero di risposte è stato scelto per compensare la sensibilità degli artefatti da riflesso di ammiccamento.

Avere più risposte a disposizione permette di selezionare quelle più adatte, migliorando così la qualità della risposta R2 finale.

In ogni trial, sono state analizzate le aree delle componenti tardive del riflesso di ammiccamento, sia ipsilaterale (R2) che controlaterale (R2c).

2.4. Modulazione condizionata del dolore e LEP

La modulazione condizionata del dolore ha lo scopo di valutare l'inibizione dello stimolo condizionante sui parametri neurofisiologici misurabili tramite i LEP e correlare i risultati con gli aspetti anatomici e funzionali della trasmissione nocicettiva.

Per valutare l'effetto dell'inibizione dello stimolo condizionante sui parametri neurofisiologici tramite i LEP, è stato adottato il protocollo CPM basato su HNCS, come precedentemente descritto.

La registrazione dei LEP è stata eseguita seguendo le normative per tale esame che sono state precedentemente descritte. Di conseguenza, gli stimoli sono stati somministrati utilizzando uno stimolatore laser Nd:YAP, sul dorso della mano e del piede destro. Il punto di applicazione del laser è stato individuato con un raggio laser He-Ne e leggermente modificato dopo ogni stimolo per prevenire la sensibilizzazione e l'affaticamento dei nocicettori.

Le risposte neurofisiologiche sono state registrate utilizzando apparecchiature Keypoint (Dantec) con elettrodi a coppetta Ag-AgCl posizionati a Cz e Fz, con riferimento al naso, e a T3 con riferimento a Fz, secondo il Sistema Internazionale 10-20. Gli elettrodi sono stati fissati con un'apposita pasta conduttiva (Ten20), previa pulizia accurata dello scalpo con alcol e pasta sgrassante (impedenze < 5K Ω).

Per la registrazione delle risposte sono stati utilizzati i seguenti parametri: amplificazione di 30-50 μ V/D, filtro passa-basso di 0,2 Hz, filtro passa-alto di 100 Hz e una sweep di 200 ms/D.

Il movimento oculare è stato monitorato tramite elettrooculografia (EOG) e tutte le tracce contenenti artefatti EOG sono state rimosse manualmente off-line.

Sono stati utilizzati i seguenti parametri di stimolazione: diametro del fascio laser di 5 mm, durata dell'impulso di 5 ms e lunghezza d'onda di 1,4 μm .

L'intensità dello stimolo è stata determinata sulla base della soglia del dolore individuale, regolata utilizzando una serie di stimoli a energia crescente e decrescente fino al raggiungimento della soglia del dolore, definita come un punteggio di 4 sulla scala di valutazione numerica a 11 punti (NRS, da 0 a 10).

L'intensità finale è stata fissata a 1,5 volte la soglia del dolore, mantenuta costante durante l'intera durata dello studio.

Per garantire risposte stabili e analizzabili, sono stati somministrati almeno 10 stimoli laser, a intervalli casuali di 20-30 secondi durante ciascuna sessione, per ridurre l'effetto dell'aspettativa. I dati sono stati analizzati off-line sulla base di una media di 10 stimoli validi.

I parametri LEP e le valutazioni del dolore sono stati raccolti in tre sessioni: basale (BL), durante la stimolazione condizionante (HNCS) e dopo la stimolazione condizionante (post-HNCS). Al termine di ciascuna sessione (BL, HNCS e post-HNCS), i partecipanti hanno valutato l'intensità dello stimolo nocicettivo utilizzando la scala a 11 punti NRS, da 0 (nessun dolore) a 10 (dolore più intenso immaginabile). L'intensità di stimolazione è stata stabilita per l'arto superiore destro e l'arto inferiore destro durante la condizione BL e non è variata per le successive.

La stimolazione condizionante consisteva nell'immergere il piede sinistro nel ghiaccio (circa 0°C), inducendo il dolore necessario per massimizzare l'effetto inibitorio sullo stimolo laser (stimolo test) [27].

La terza sessione (post-HNCS) è iniziata dopo un intervallo di 15 minuti dalla stimolazione HNCS, in linea con studi precedenti che dimostrano come gli effetti inibitori dello stimolo condizionante sul dolore svaniscano dopo 5-10 minuti [28].

L'intervallo tra l'ultimo stimolo laser nella condizione BL e il primo nella condizione HNCS è stato di circa due minuti.

Solo un paziente con FMD non ha tollerato il dolore indotto dal ghiaccio per tutta la durata della procedura, per questo motivo è stato escluso dallo studio.

Per evitare influenze legate alle aspettative, è stato spiegato ai partecipanti che il ghiaccio poteva ridurre, aumentare o non alterare la percezione del dolore provocata dagli stimoli laser.

Inoltre, per garantire un livello di attenzione costante in tutte le sessioni, a ogni stimolazione, ed evitare eventuali artefatti oculari, è stato richiesto ai partecipanti di fissare un punto e contare mentalmente il numero di stimolazioni eseguite.

2.5. Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software JASP (Jeffreys's Amazing Statistics Program, sviluppato dall'Università di Amsterdam).

Le statistiche descrittive includevano frequenze per variabili categoriali, medie e deviazioni standard per variabili continue. I confronti tra i gruppi sono stati eseguiti mediante il Chi-quadrato per le variabili categoriali e il T-test per campioni indipendenti per le variabili continue.

Le risposte del Blink Reflex sono state rettificate e analizzate offline. Sono stati esclusi gli studi contenenti artefatti.

In ogni studio del Blink Reflex sono state identificate le componenti del riflesso dell'ammicciamento tardiva ipsilaterale (R2) e controlaterale (R2c).

L'entità delle risposte R2 e R2c è stata misurata come area tra la curva e la Baseline e sulle loro latenze. L'area è espressa come $\mu V \times ms$; la latenza è stata espressa come ms.

Per valutare l'effetto del PPI è stata calcolata la media delle aree e delle latenze R2 e R2c per ciascuna prova.

La latenza di insorgenza della risposta R2 è stata misurata in ogni singola traccia rettificata posizionando manualmente un cursore quando la curva si staccava dalla Baseline.

La latenza finale è stata determinata posizionando manualmente un cursore quando l'attività EMG tornava al livello di base. La macchina EMG ha prodotto il valore dell'area al di sotto della curva tra i due marcatori (somma dei valori di tensione raddrizzata per l'intervallo di campionamento).

La normale distribuzione dei dati è stata valutata all'interno di ciascuna condizione con il test di Shapiro-Wilk; la significatività statistica è stata fissata a $p < 0,05$.

A seguito dell'esame i dati sono risultati distribuiti normalmente ($p > 0,05$); pertanto, le risposte alla stimolazione Baseline sono state confrontate con le risposte ottenute durante la PPI, applicando l'analisi della varianza unidirezionale (ANOVA) per misure ripetute.

Per tale analisi la condizione (BL e PPI) era il fattore intra soggetto, mentre il fattore gruppo (pazienti, controlli) era il fattore tra soggetti.

Per l'analisi post-hoc, qualora necessaria, è stata applicata la correzione di Bonferroni.

Il coefficiente di correlazione di Pearson è stato calcolato tra le ampiezze e le latenze della risposta R2 e R2c per valutare la relazione tra le risposte alla BL e durante la PPI; la correlazione è espressa come valori assoluti. La significatività statistica è stata fissata a $p < 0,05$.

Le registrazioni del complesso N2P2 tramite i LEP sono state analizzate offline. Sono stati esclusi gli studi contenenti artefatti.

In ogni studio è stata identificata l'ampiezza della risposta del complesso N2P2. L'ampiezza è stata calcolata posizionando un cursore sul picco negativo (N2) e uno sul picco positivo del potenziale (P2). L'ampiezza del complesso è stata misurata in μV .

Per valutare l'effetto di HNCS sulla modulazione del complesso N2P2, è stato confrontato il parametro neurofisiologico ampiezza del complesso N2P2 e i punteggi del dolore NRS registrati nelle tre condizioni (BL, HNCS, post-HNCS). È stato deciso $p < 0,05$ come valore di significatività.

Grazie al test di Shapiro-Wilk è stato possibile constatare che i dati fossero distribuiti normalmente; la significatività statistica è stata fissata a $p < 0,05$. Dall'analisi è risultato $p > 0,05$, quindi, per valutare l'effetto di CPM sul DNIC è stato confrontato il parametro neurofisiologico ampiezza del complesso N2P2 e i punteggi del dolore NRS registrati nelle tre condizioni (BL, HNCS, post-HNCS), tramite l'ANOVA per misure ripetute. È stato deciso $p < 0,05$ come valore di significatività.

Per tale analisi la condizione (BL, HNCS, post-HNCS) era il fattore intra soggetto, mentre il fattore gruppo (pazienti, controlli) era il fattore tra soggetti.

Per l'analisi post-hoc, qualora necessaria, è stata applicata la correzione di Bonferroni.

Nel corso dell'analisi statistica dei dati raccolti per le risposte neurofisiologiche dei LEP, è stata effettuata un'indagine sulle correlazioni tra le variabili esaminate. Il coefficiente di correlazione, che può assumere valori compresi tra -1 e +1, consente di stabilire se le variabili sono positivamente correlate (direttamente proporzionali), negativamente correlate (inversamente proporzionali) o se non vi è una correlazione significativa.

Questa analisi ha lo scopo di individuare eventuali legami tra le variabili principali dello studio, fornendo un supporto per una migliore comprensione dei fenomeni analizzati e per la formulazione di ipotesi successive. I risultati ottenuti hanno permesso di identificare quali variabili presentavano una maggiore connessione reciproca, agevolando così l'interpretazione dei dati e l'identificazione di eventuali pattern rilevanti.

Per tale analisi è stato preso in considerazione il coefficiente di correlazione di Pearson. Esso è stato calcolato per esprimere una relazione tra le ampiezze del LEP e i valori NRS nelle diverse condizioni. In entrambi i casi la significatività statistica è stata posta a $p < 0,05$.

3. RISULTATI

3.1. Caratteristiche clinico-demografiche

Le caratteristiche dei sintomi motori sono presentate nella Tabella 1. La maggior parte dei pazienti aveva un fenotipo misto.

Grazie al t-test per campioni indipendenti, avendo posto $p < 0,05$ come valore significativo, si può sostenere che non è presente una differenza significativa per l'età tra i soggetti di controllo (gruppo 0) e i pazienti con FMD (gruppo 1), in quanto $p > 0,05$.

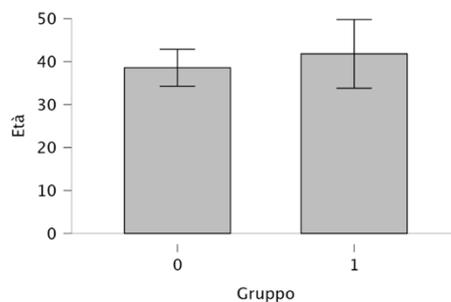


Grafico 1. Il grafico illustra l'assenza di differenza di età per i due gruppi. Il gruppo 0 indica i soggetti di controllo, il gruppo 1 i pazienti con FMD.

Grazie al test Chi-quadrato, avendo posto $p < 0,05$ come valore significativo, si può sostenere che non è presente una differenza significativa per il genere tra i soggetti di controllo (gruppo 0) e i pazienti con FMD (gruppo 1), in quanto $p > 0,05$.

3.2. Analisi della risposta R2 e R2c

La tabella 2 presenta le risposte neurofisiologiche R2 e R2c durante le condizioni Baseline e PPI, e i risultati a seguito dell'ANOVA.

	R2 Area (ms x mV)		ANOVA		
	FMD	SC	CD * gruppo	CD	Gruppo
BL	1,8 ± 3,2	2,2 ± 2,4	F = 9,431 p = 0,004*	F = 0,477 p = n.s.	F = 0,105 p = n.s.
PPI	2,3 ± 4,6	1,4 ± 1,4			

	R2c Area (ms x mV)		ANOVA		
	FMD	SC	CD * gruppo	CD	Gruppo
BL	0,8 ± 0,5	1,6 ± 1,8	F = 9,755 p = 0,003*	F = 0,123 p = n.s.	F = 1,364 p = n.s.
PPI	1,1 ± 0,8	1,2 ± 1,3			

Tabella 2. Media dell'area delle risposte neurofisiologiche R2 e R2c dei Blink Reflex, registrate durante la condizione di Baseline (BL) e durante la Prepulse Inhibition (PPI), nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali (FMD) e nei soggetti di controllo (SC).

Sono riportati i valori F dell'ANOVA e dei p-value (CD: condizione).

p = n.s.: valore non significativo, ovvero $p > 0,05$

*indica che le analisi post-hoc sono risultate significativamente diverse.

L'ANOVA a misure ripetute condizione * gruppo per l'area di R2 ($F=9,431$, $p=0,004$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi solo una differenza significativa ($t=3,258$, $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni) nei soggetti di controllo tra BL e PPI; non vi è alcuna differenza significativa nel gruppo di pazienti ($p>0,05$). Inoltre, i due gruppi non differivano tra di loro né a BL né a PPI ($p>0,05$).

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di condizione e di gruppo separatamente non sono risultate significative ($F=0,477$ e $F=0,105$, $p>0,05$).

Il grafico 2 illustra la variazione della media dell'area delle risposte R2 tra le condizioni BL e PPI, nel gruppo di controllo e nel gruppo di pazienti.

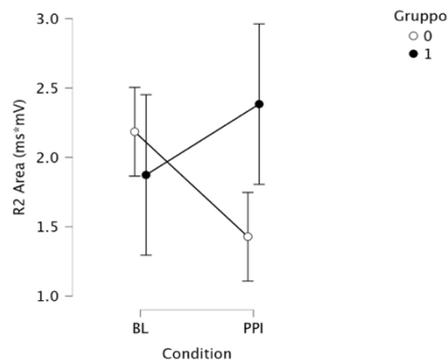


Grafico 2. Effetto della PPI sulla media dell'area delle risposte R2. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

L'ANOVA a misure ripetute condizione * gruppo per l'area di R2c è risultata significativa ($F=9,755$, $p=0,003$). Dall'analisi post-hoc risulta esservi solo una differenza significativa ($t=3,008$, $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni) nei soggetti di controllo tra BL e PPI; non vi è alcuna differenza significativa nel gruppo di pazienti ($p>0,05$). Inoltre, i due gruppi non differivano tra di loro alla BL ($p>0,05$).

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di condizione e di gruppo separatamente per l'area di R2c non sono risultate significative ($F=0,123$ e $F=1,364$, $p>0,05$).

Il grafico 3 illustra la variazione della media dell'area delle risposte R2c tra le condizioni BL e PPI, nel gruppo di controllo e nel gruppo di pazienti.

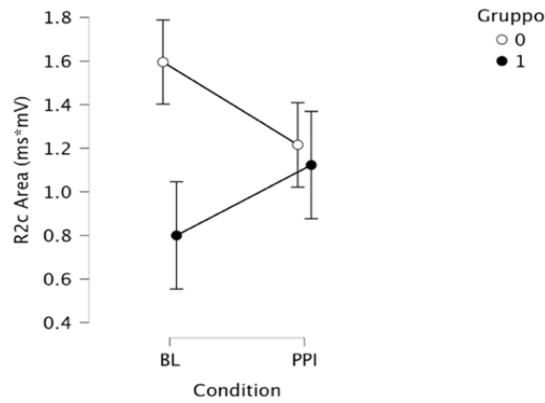


Grafico 3. Effetto della PPI sulla media dell'area delle risposte R2c. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

La Figura 4 e 5 mostrano le risposte R2 e R2c di un soggetto di controllo e di un paziente con FMD durante la BL e la PPI.

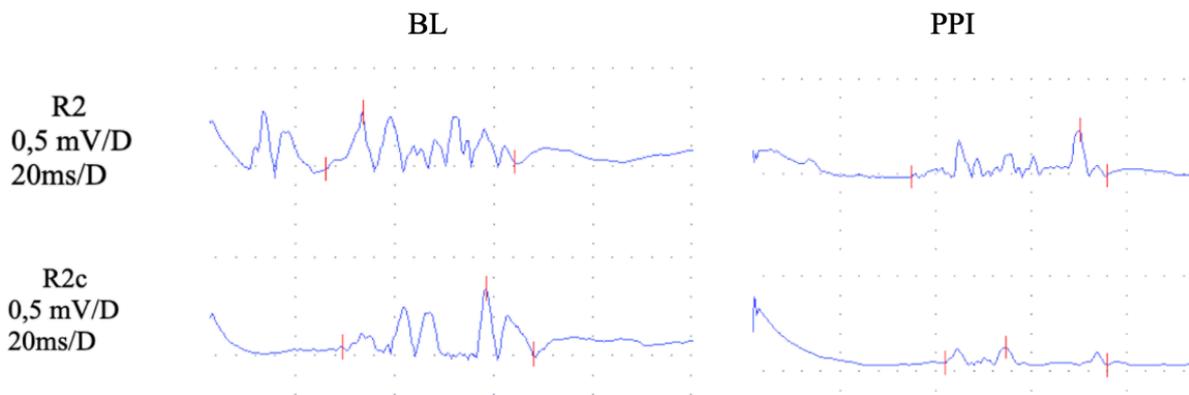


Figura 4. Esempio delle risposte neurofisiologiche (R2 e R2c) dei Blink Reflex durante la stimolazione alla Baseline e durante la Prepulse Inhibition in un soggetto di controllo. Ogni traccia rappresenta la media di sei registrazioni rettificate.

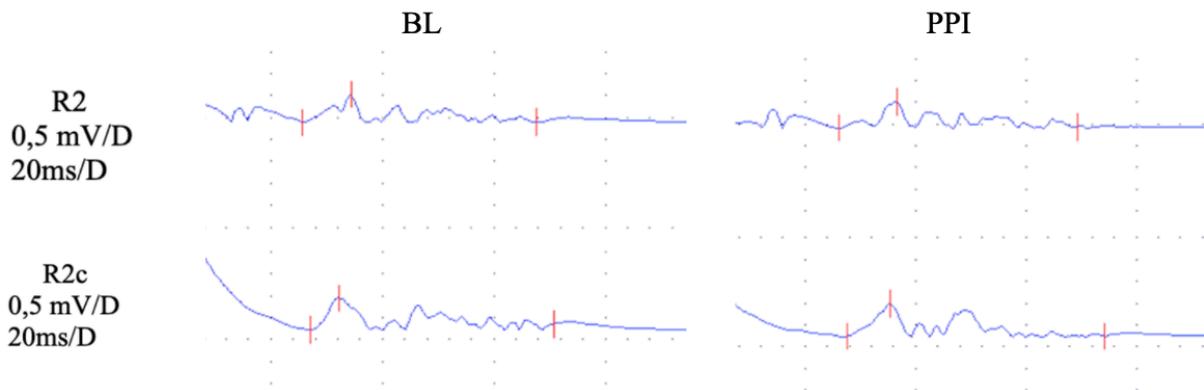


Figura 5. Esempio delle risposte neurofisiologiche (R2 e R2c) dei Blink Reflex durante la stimolazione alla Baseline e durante la Prepulse Inhibition in un paziente con FMD. Ogni traccia rappresenta la media di sei registrazioni rettificate.

3.3. Analisi del complesso N2P2 e dei valori NRS per l'AS

La tabella 3 presenta l'ampiezza media di N2P2 e i punteggi medi NRS durante la stimolazione laser dell'AS, nelle tre condizioni, e i risultati a seguito dell'ANOVA a misure ripetute.

	BL		HNCS		Post-HNCS		ANOVA		
	FMD	SC	FMD	SC	FMD	SC	CD * gruppo	CD	Gruppo
AMP N2P2 AS (μV)	38,7 \pm 14,1	34,9 \pm 13,2	30,9 \pm 12,9	21,1 \pm 10,1	34,4 \pm 11,4	30,6 \pm 12,2	F = 0,690 p = n.s.	F = 20,077 p < 0,001*	F = 2,054 p = n.s.
NRS AS (0-10)	6,5 \pm 1,7	5,2 \pm 1,9	5,4 \pm 1,3	4,1 \pm 1,7	5,6 \pm 1,6	4,4 \pm 1,9	F = 0,030 p = n.s.	F = 14,061 p < 0,001*	F = 7,526 p = 0,009*

Tabella 3. Media dell'ampiezza (AMP) della risposta neurofisiologica N2P2 e del dolore percepito (NRS) dei LEP registrati stimolando l'AS destro, durante le tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS), nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali (FMD) e nei soggetti di controllo (SC).

I dati riportati sono la media delle risposte ottenute \pm SD.

Sono riportati i valori F dell'ANOVA e dei p-value (CD: condizione).

p = n.s.: valore non significativo, ovvero $p > 0,05$

*indica che le analisi post-hoc sono risultate significativamente diverse.

L'ANOVA a misure ripetute condizione * gruppo per l'ampiezza N2P2 all'AS non è risultata significativa (F=0,690, $p > 0,05$). Questo conferma l'assenza di differenza dei valori registrati nelle tre condizioni tra i due gruppi.

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di condizione per l'ampiezza di N2P2 all'AS è risultata significativa (F=20,077, $p < 0,001$). Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa tra BL- HNCS, BL-postHNCS e HNCS-postHNCS ($t=6,196$, $t=2,567$ e $t=-4,257$, in tutti i casi $p < 0,05$ dopo correzione di Bonferroni).

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di gruppo non è risultata significativa (F=2,054, $p > 0,05$).

Il grafico 4 illustra la variazione nelle tre condizioni della media dell'ampiezza del complesso N2P2 registrato a seguito della stimolazione laser dell'AS destro, nel gruppo di soggetti di controllo e nel gruppo di pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

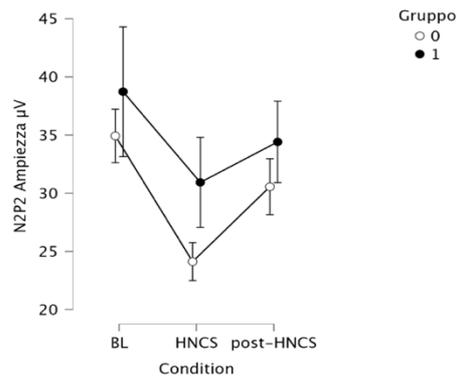


Grafico 4. Variazione della media dell'ampiezza del complesso N2P2 registrato a seguito della stimolazione laser dell'AS destro durante le tre condizioni. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

L'ANOVA a misure ripetute condizione * gruppo per la NRS AS non è risultata significativa ($F=0,030$, $p>0,05$). Questo conferma l'assenza di differenza dei valori registrati nelle tre condizioni tra i due gruppi.

L'ANOVA a misure ripetute per l'effetto di condizione per la NRS AS ($F=14,061$, $p<0,001$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa tra BL-HNCS e BL-postHNCS ($t=5,054$, $t=3,611$ in tutti i casi $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni).

L'ANOVA a misure ripetute per l'effetto di gruppo per la NRS AS ($F=7,526$, $p=0,009$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa tra i due gruppi ($t=-2,743$, $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni), questo indica che i pazienti riportano sempre un livello maggiore di percezione del dolore rispetto ai soggetti di controllo.

Il grafico 5 illustra la variazione nelle tre condizioni dei valori medi di NRS percepiti durante la stimolazione dell'AS destro, nel gruppo di controllo e nel gruppo di pazienti.

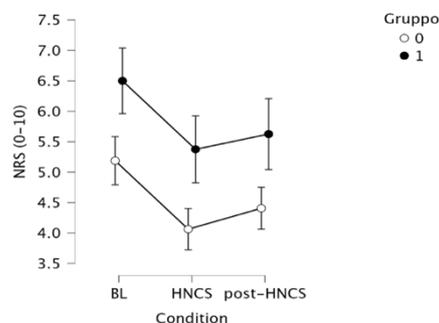


Grafico 5. Variazioni della percezione del dolore medio, valutato tramite la scala NRS, durante le tre condizioni. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

La Figura 6 e 7 mostrano rispettivamente il complesso N2P2 di un soggetto di controllo e di un paziente con FMD durante le tre condizioni d'esame a seguito della stimolazione dell'AS destro.

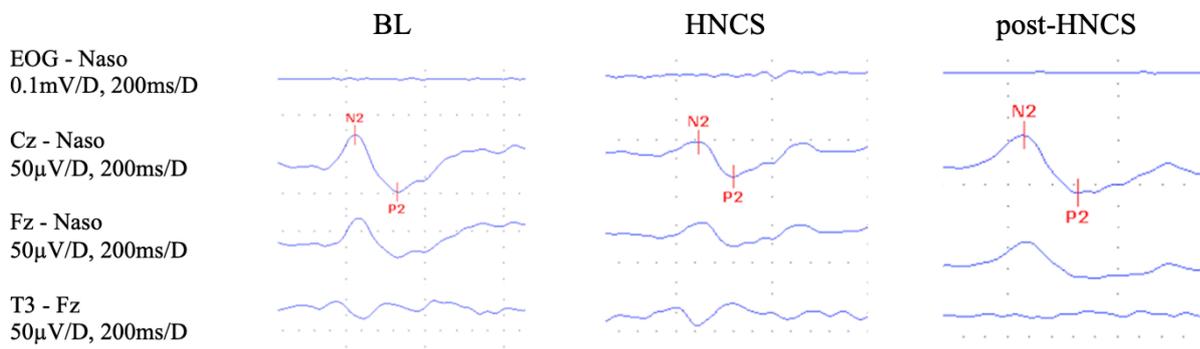


Figura 6. Esempio della risposta neurofisiologica (complesso N2P2) dei LEP di un soggetto di controllo registrato nelle tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS) a seguito di stimolazione dell'arto superiore destro. È riportato l'EOG per valutare eventuali artefatti oculari. Ogni traccia rappresenta la media di dieci registrazioni.

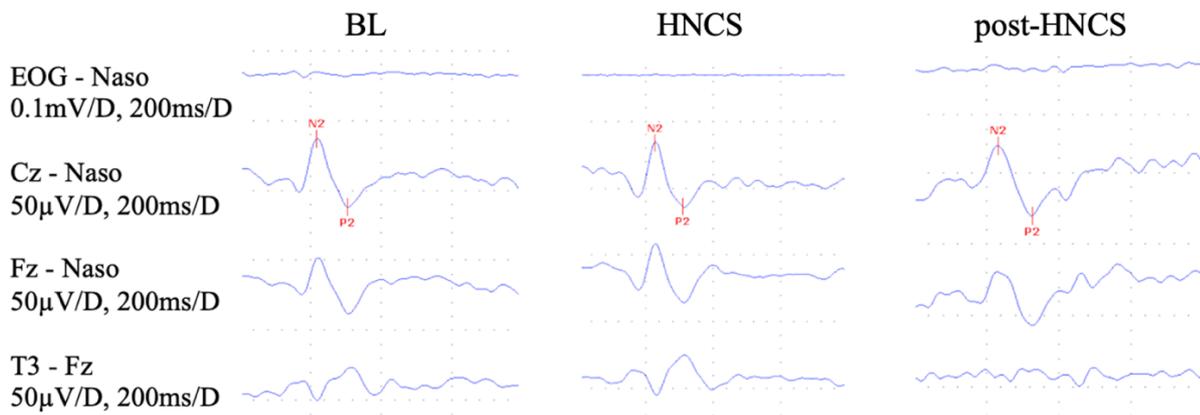


Figura 7. Esempio della risposta neurofisiologica (complesso N2P2) dei LEP di un paziente con FMD registrato nelle tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS) a seguito di stimolazione dell'arto superiore destro. È riportato l'EOG per valutare eventuali artefatti oculari. Ogni traccia rappresenta la media di dieci registrazioni.

3.4. Analisi del complesso N2P2 e dei valori NRS per l'AI

La tabella 4 presenta l'ampiezza media di N2P2 e i punteggi medi NRS durante la stimolazione laser dell'AI, nelle tre condizioni, e i risultati a seguito dell'ANOVA.

	BL		HNCS		Post-HNCS		ANOVA		
	FMD	SC	FMD	SC	FMD	SC	CD * gruppo	CD	Gruppo
AMP N2P2 AI (µV)	30,9 ± 11,8	31,6 ± 11,1	27,8 ± 9,6	22,2 ± 9,7	29,5 ± 10,6	25,9 ± 7,4	F = 4,649 p = 0,012*	F = 17,484 p < 0,001*	F = 1,079 p = n.s.
NRS AI (0-10)	6,3 ± 1,8	5,4 ± 2,1	5,5 ± 1,8	4,9 ± 2,3	5,9 ± 1,9	5,3 ± 2,3	F = 0,211 p = n.s.	F = 4,625 p = 0,012*	F = 1,443 p = n.s.

Tabella 4. Media dell'ampiezza (AMP) della risposta neurofisiologica N2P2 e del dolore percepito (NRS) dei LEP registrati stimolando l'AI destro, durante le tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS), nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali (FMD) e nei soggetti di controllo (SC).

I dati riportati sono la media delle risposte ottenute \pm SD.

Sono riportati i valori F dell'ANOVA e dei p-value (CD: condizione).

p = n.s.: valore non significativo, ovvero $p > 0,05$

*indica che le analisi post-hoc sono risultate significativamente diverse.

L'ANOVA a misure ripetute condizioni * gruppo per l'ampiezza di N2P2 AI ($F=4.649$, $p=0,012$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa, dopo correzione di Bonferroni, nel gruppo di controllo tra BL-HNCS ($t=8,248$, $p<0,05$), BL-postHNCS ($t=4,230$, $p<0,05$) e HNCS-postHNCS ($t=-3,170$, $p<0,05$); non vi è alcuna differenza significativa nel gruppo di pazienti per le varie condizioni ($p>0,05$). Non vi è una differenza statisticamente significativa tra i gruppi nelle tre condizioni dopo correzione di Bonferroni ($p>0,05$).

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di condizione per l'ampiezza di N2P2 AI ($F=17.484$, $p<0,001$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa tra BL-HNCS, BL-postHNCS e HNCS-postHNCS ($t=6,324$, $t=3,028$ e $t=-2,675$, in tutti i casi $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni).

L'ANOVA a misure ripetute per valutare l'effetto di gruppo per l'ampiezza N2P2 non è risultata significativa ($F=01,079$, $p>0,05$).

Il grafico 6 illustra la variazione nelle tre condizioni della media dell'ampiezza del complesso N2P2 registrato a seguito della stimolazione laser dell'AI destro, nel gruppo di controllo e nel gruppo di pazienti.

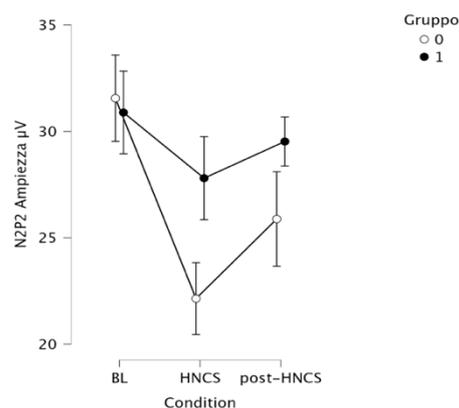


Grafico 6. Variazioni della media dell'ampiezza del complesso N2P2 registrato a seguito di stimolazione laser dell'AI destro, durante le tre condizioni. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

L'ANOVA a misure ripetute condizione * gruppo per la NRS AI non è risultata significativa ($F=0,211$, $p>0,05$). Questo conferma l'assenza di differenza dei valori registrati nelle tre condizioni tra i due gruppi.

L'ANOVA a misure ripetute per l'effetto di condizione per NRS AI ($F=4,625$, $p=0,012$) è risultata significativa. Dall'analisi post-hoc risulta esservi una differenza significativa tra BL- HNCS ($t=2,783$, $p<0,05$ dopo correzione di Bonferroni), ma non per le altre condizioni ($p>0,05$).

L'ANOVA a misure ripetute per l'effetto di gruppo per la NRS AI ($F=1,443$, $p>0,05$) non è risultata significativa.

Il grafico 7 illustra la variazione nelle tre condizioni dei valori medi di NRS percepiti durante la stimolazione laser dell'AI destro, nel gruppo di controllo e nel gruppo di pazienti.

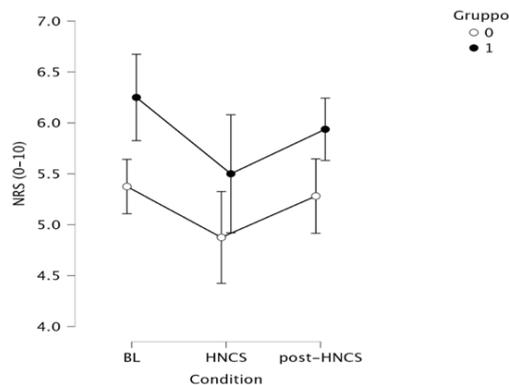


Grafico 7. Variazioni della percezione del dolore medio, valutato tramite la scala NRS, durante le tre condizioni, a seguito di stimolazione laser dell'AI destro. Il gruppo 0 è composto dai soggetti di controllo, il gruppo 1 dai pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

La Figura 8 e 9 mostrano rispettivamente il complesso N2P2 di un soggetto di controllo e di un paziente con FMD durante le tre condizioni d'esame per l'AI destro.

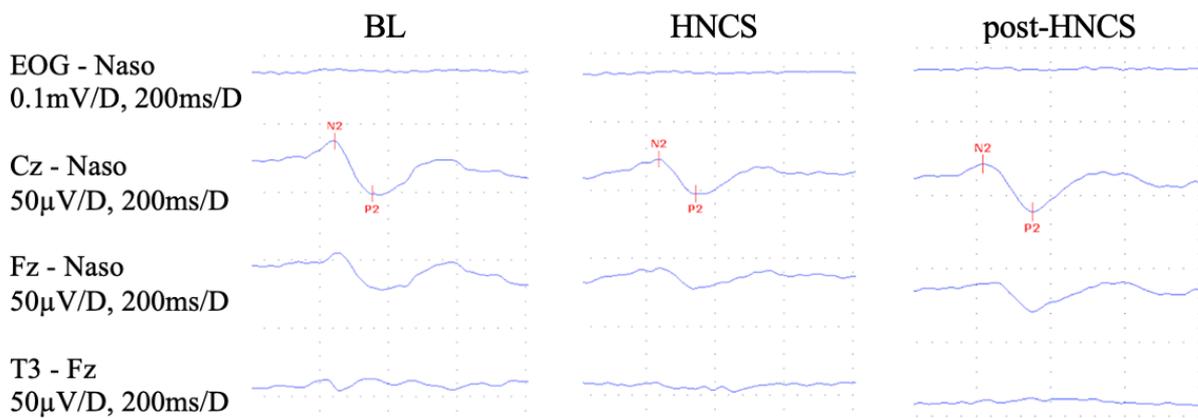


Figura 8. Esempio della risposta neurofisiologica (complesso N2P2) dei LEP di un soggetto di controllo registrato nelle tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS) a seguito di stimolazione dell'arto inferiore destro. È riportato l'EOG per

valutare eventuali artefatti oculari. Ogni traccia rappresenta la media di dieci registrazioni.

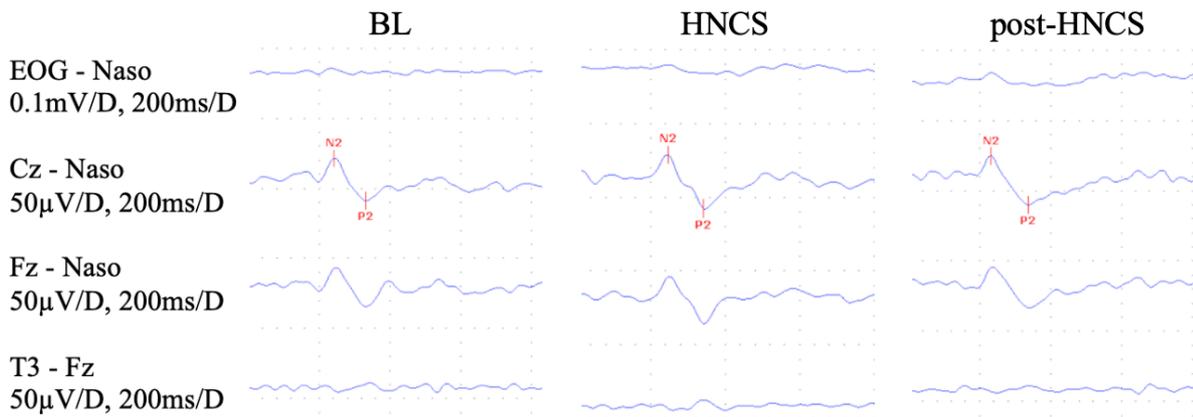


Figura 9. Esempio della risposta neurofisiologica (complesso N2P2) dei LEP di un paziente con FMD registrato nelle tre condizioni (BL, HNCS e post-HNCS) a seguito di stimolazione dell'arto inferiore destro. È riportato l'EOG per valutare eventuali artefatti oculari. Ogni traccia rappresenta la media di dieci registrazioni.

3.5. Correlazioni tra l'ampiezza di N2P2 e i valori di NRS

Il coefficiente di correlazione di Pearson, calcolato per esprimere una possibile relazione tra le ampiezze del complesso N2P2 e i valori NRS nelle diverse condizioni, non ha mostrato alcuna correlazione statisticamente significativa, per nessuna condizione ($p > 0,05$).

4. DISCUSSIONE

Il primo obiettivo dello studio era analizzare l'effetto della Prepulse Inhibition confrontando le risposte ottenute grazie ai Blink Reflex nei soggetti di controllo e nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali. I risultati hanno mostrato una differenza significativa nell'area delle due risposte (R2 e R2c) tra le due condizioni (BL e PPI) nei soggetti di controllo, con una riduzione dell'ampiezza durante la PPI. Invece, nei pazienti con FMD, non è stata registrata alcuna riduzione statisticamente significativa nelle risposte R2 e R2c tra le due condizioni, suggerendo un deficit nell'inibizione sensoriale in questi pazienti.

Questa mancata inibizione non è associabile a una disfunzione delle vie nervose coinvolte nel Blink Reflex, in quanto i valori delle aree delle risposte R2 e R2c alla BL erano comparabili nei pazienti con FMD e nei soggetti di controllo.

La mancanza di una significativa riduzione dell'ampiezza della risposta R2 durante la PPI indica che i pazienti affetti da FMD hanno una ridotta capacità di filtrare gli stimoli sensoriali rilevanti e ignorare quelli irrilevanti. In condizioni normali, la PPI riduce le risposte motorie indesiderate per facilitare l'elaborazione sensoriale degli input importanti. Tuttavia, nei pazienti con FMD, la ridotta efficacia della PPI suggerisce un deficit nella capacità di regolare questi stimoli.

La PPI è regolata da specifici circuiti neurochimici e anatomici che coinvolgono la corteccia prefrontale, il talamo, l'amigdala, il nucleo striato e il nucleo accumbens. Nei pazienti con FMD, la disfunzione dei meccanismi di regolazione, che coinvolgono proiezioni dal prosencefalo ai circuiti del riflesso pontino, potrebbe essere alla base di questa alterazione. Poiché la PPI è un fenomeno automatico e sottocorticale che si verifica prima della percezione cosciente dello stimolo, i deficit riscontrati nei FMD indicano un'alterazione nei processi di integrazione sensomotora.

La disfunzione nella rete di salienza, che include lo striato ventrale e l'amigdala, è stata dimostrata in studi di imaging nei pazienti con FMD. Questa rete è responsabile del riorientamento dell'attenzione e della risposta a stimoli rilevanti. Un'anomalia nella capacità di riconoscere stimoli salienti potrebbe essere alla base della riduzione della PPI nei FMD, poiché una scarsa identificazione degli stimoli rilevanti riduce l'efficacia della PPI. Questo difetto di allocazione dell'attenzione può portare a una difficoltà nell'elaborare correttamente gli stimoli sensoriali, contribuendo ai sintomi motori funzionali.

Questi risultati sono coerenti con le osservazioni di studi precedenti che hanno riportato alterazioni della PPI nei disturbi neurologici, tra cui i FMD [26].

Il secondo obiettivo dello studio era applicare il protocollo CPM per valutare l'effetto dei controlli inibitori nocicettivi diffusi nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali, rispetto ai soggetti di controlli.

È stato quindi valutato il complesso N2P2 ottenuto tramite i LEP, sia per stimolazione agli arti superiori, che agli arti inferiori, prima e dopo la stimolazione nocicettiva eterotopica condizionata. Dall'analisi dei dati è stata rilevata una diminuzione dell'ampiezza del complesso N2P2 statisticamente significativa per il gruppo di soggetti di controllo, registrato sia da stimolazione all'arto superiore che all'arto inferiore, durante la fase HNCS. Questa esprime l'attivazione da parte dello stimolo HNCS del DNIC tale per cui vi è stata un'inibizione della via nocicettiva.

Nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali, a seguito della stimolazione all'arto superiore, è stata registrata una diminuzione dell'ampiezza del complesso N2P2 statisticamente significativa durante la fase HNCS; invece, a seguito della stimolazione dell'arto inferiore, non è stata registrata una diminuzione dell'ampiezza del complesso N2P2 statisticamente significativa nelle tre condizioni. Inoltre, l'inibizione nei pazienti con FMD rispetto ai soggetti di controllo risulta essere di minor entità; questi risultati suggeriscono una possibile alterazione della funzionalità del DNIC nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali.

Risulta esservi un'inibizione statisticamente significativa, sia per i soggetti di controllo, che per i pazienti con FMD, del dolore percepito ed espresso tramite la scala NRS durante la stimolazione nocicettiva eterotopica e la Baseline.

La minor riduzione dell'ampiezza del complesso N2P2 agli arti superiori e l'assenza di inibizione agli arti inferiori, non è associabile a una disfunzione delle vie ascendenti, poiché l'ampiezza del complesso N2P2 e dei valori di NRS alla BL erano comparabili nei pazienti con FMD e nei soggetti di controllo.

L'assenza di una correlazione tra le ampiezze del complesso N2P2 e i valori NRS nelle diverse condizioni, conferma l'assenza di un danno alle vie ascendenti. Questo risultato è coerente con precedenti studi [18, 29].

I risultati ottenuti grazie al protocollo CPM indicano che nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali vi è una riduzione dell'inibizione del DNIC, a causa di una sua ridotta attivazione in risposta allo

stimolo eterotopico condizionante, probabilmente dovuto a un deficit nella via nocicettiva discendente.

Il CPM è modulato da diverse aree cerebrali, inclusi i centri limbici come il subnucleo reticolare dorsale, che svolgono un ruolo cruciale nella regolazione del dolore e dell'interocezione. La disfunzione in queste aree può compromettere l'efficacia del CPM, riducendo la capacità di sopprimere il dolore in modo adeguato.

Il CPM è influenzato anche da centri cerebrali superiori come la corteccia prefrontale e la corteccia cingolata. Disfunzioni in queste aree, che sono coinvolte sia nella regolazione cognitiva che emotiva, possono ridurre la capacità del cervello di modulare efficacemente il dolore attraverso meccanismi discendenti.

Inoltre, i pazienti con FMD possono avere un'alterazione nella componente cognitivo-emotiva del dolore, che può influenzare negativamente il CPM. Queste alterazioni possono essere causate da fattori come l'ansia, la depressione, o altre condizioni psicosociali che interferiscono con la regolazione normale del dolore.

Questi risultati sono coerenti con le osservazioni di studi precedenti [30].

È importante sottolineare che in questo studio non è stato preso in esame il complesso N1P1 generalmente analizzato grazie ai Potenziali Evocati Laser. Tale decisione è stata presa poiché in precedenti studi è stato dimostrato che l'effetto inibitorio del DNIC influenza principalmente la trasmissione del dolore attraverso la via mediale (con coinvolgimento di SRT), mentre la via laterale (che include STT) non è coinvolta. Il complesso N2P2 rappresenta principalmente la via mediale di trasmissione del dolore, mentre l'onda N1 rappresenta la via laterale. Pertanto, dato che l'obiettivo era valutare l'effetto del CPM sulla via nocicettiva dei pazienti con FMD e che tale protocollo prevede l'attivazione del DNIC, è stato deciso di concentrarsi sulle alterazioni del complesso N2P2, non includendo il complesso N1P1 [18].

5. CONCLUSIONI

Questo studio ha analizzato l'effetto della Prepulse Inhibition e della Modulazione Condizionata del Dolore nei pazienti con Disturbi Motori Funzionali, con l'obiettivo di identificare delle alterazioni nei meccanismi di inibizione sensoriale e di modulazione del dolore.

I risultati preliminari hanno evidenziato un deficit significativo nell'inibizione sensoriale nei pazienti con FMD, come dimostrato dalla mancanza di riduzione nell'ampiezza e nell'aumento di latenza della risposta R2 rispetto ai soggetti di controllo. Questo è correlato a disfunzioni nei circuiti neurochimici e anatomici coinvolti nella modulazione sensoriale, come la corteccia prefrontale, il talamo, l'amigdala e il nucleo accumbens.

L'analisi del complesso N2P2 ha mostrato nei pazienti con FMD l'assenza di inibizione delle vie nocicettive afferenti dell'AI e una ridotta inibizione delle vie nocicettive afferenti dell'AS, durante la stimolazione HNCS. Tali risultati sono in linea con l'ipotesi di una disfunzione nelle aree limbiche, responsabili della modulazione del dolore e dell'interocezione.

L'assenza di una inibizione statisticamente significativa potrebbe essere dovuta a differenze metodologiche o di campionamento, e l'espansione del campione sarà necessaria per approfondire questa relazione. Tuttavia, la minor riduzione registrata rispetto ai soggetti di controllo è un indice importante che sostiene la nostra ipotesi.

5.1. Implicazioni diagnostiche

Questi risultati potrebbero avere implicazioni cliniche significative per la diagnosi dei Disturbi Motori Funzionali. L'uso della PPI e del CPM come strumenti diagnostici potrebbe fornire un metodo oggettivo per identificare alterazioni neurofisiologiche specifiche nei pazienti affetti da FMD, facilitando così una diagnosi più tempestiva e accurata.

5.2. Prospettive future

Per studiare ulteriormente il ruolo della PPI e del CPM nei Disturbi Motori Funzionali, si dovrebbe ampliare il campione analizzato. Al termine del progetto, dato che prevede il reclutamento di 75 pazienti con FMD e 75 soggetti di controllo, si potrà definire con più precisione se la PPI e il CPM sono possibili marker diagnostici per tali disturbi.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] M. Tinazzi, M. Gandolfi, (n.d.), *“I Disturbi Motori Funzionali: nuovi approcci diagnostici e terapeutici”*, p. 6-27.
- [2] A. Gupta, A. E. Lang, 2009, “Psychogenic movement disorders”, *Current Opinion in Neurology*, 22(4):p430-436, doi: 10.1097/WCO.0b013e32832dc169.
- [3] Fahn, S. 2006. *“The history of psychogenic movement disorders”*, pp. 24-31.
- [4] T. Serranová, I. Di Vico, M. Tinazzi, 2023, *“Functional Movement Disorder. Assessment and Treatment”*, *Neurol Clin.* doi: 10.1016/j.ncl.2023.02.002.
- [5] Gelauff JM, Dreissen YEM, Tijssen MAJ, Stone J, 2014, *“Treatment of functional motor disorders”*, 16(4), doi.org/10.1007/s11940-014-0286-5.
- [6] D. C. Preston, B. E. Shapiro, 2020, *“Electromyography and Neuromuscular Disorders”*, p.52-56.
- [7] M. J. Aminoff, 1999, *“Electrodiagnosis in clinical neurology. Fourth edition”*, p. 337-344.
- [8] E. Ubiali, 2003, *“Elettroencefalografia. Testi atlante”*, p. 63-70, 73-76, 94-101.
- [9] T. D. Blumenthal, G. A. Gescheider, 1987, *“Modification of the acoustic startle reflex by a tactile prepulse: the effects of stimulus onset asynchrony and prepulse intensity”*, *Psychophysiology*, 24(3):320-7, doi: 10.1111/j.1469-8986.1987.tb00302.x.
- [10] J. Costa, J. Valls-Solé, F. Valldeoriola, C. Pech, J. Rumià, 2006, *“Single subthalamic nucleus deep brain stimuli inhibit the blink reflex in Parkinson's disease patients”*, *Brain*, (Pt 7):1758-67, doi: 10.1093/brain/awl143.
- [11] J. Valls-Sole, 2012, *“Assessment of excitability in brainstem circuits mediating the blink reflex and the startle reaction”*, *Clin Neurophysiol*, 123(1):13-20, doi.org/10.1016/j.clinph.2011.04.029.

- [12] M. A. Geyer, N. R. Swerdlow, 2001, “*Measurement of startle response, prepulse inhibition, and habituation*”, *Curr Protoc Neurosci*, Chapter 8: Unit 8.7, doi: 10.1002/0471142301.ns0807s03.
- [13] O. N. Markand, 2020, “*Clinical Evoked Potentials. An illustrated manual*”, p. 1-22.
- [14] F. Mauguière, C. Fischer, 2007, “*Evoked potentials in neurology: normal responses*”.
- [15] R. D. Treede, J. Lorenz, U. Baumgärtner, 2003, “*Clinical usefulness of laser-evoked potentials*”, *Neurophysiologie Clinique*, 33(6):303–14. doi:10.1016/j.neucli.2003.10.009.
- [16] M. F. Yam, Y. C. Loh, C. S. Tan, A. S. Khadijah, N. Abdul Manan, R. Basir, 2018, “*General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation*”. *Int J Mol Sci*, 19(8):2164. doi: 10.3390/ijms19082164.
- [17] I. Martins, I. Tavares, 2017, “*Reticular Formation and Pain: The Past and the Future. Front Neuroanat*”, 5;11:51. doi: 10.3389/fnana.2017.00051.
- [18] G. Squintani et al. A. Rasera, 2021, “*Conditioned pain modulation affects the N2/P2 complex but not the N1 wave: A pilot study with laser-evoked potentials*”, *Eur J Pain*. doi: 10.1002/ejp.1693.
- [19] K. S. Frahm, S. Gervasio, F. Arguissain, A. Mouraux, 2020 “*New Insights into Cutaneous Laser Stimulation – Dependency on Skin and Laser Type*”, *Neuroscience*, 448:71–84, doi:10.1016/j.neuroscience.2020.09.021.
- [20] D. Le Bars, A. H. Dickenson, J. M. Besson, 1980, “*Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). Effects on trigeminal nucleus caudalis neurones in the rat*”, *Brain Research*, 200(2):293–305, doi: 10.1016/0006-8993(80)90921-x.
- [21] D. Yarnitsky, L. Arendt-Nielsen, D. Bouhassira, R. R. Edwards, R. B. Fillingim, M. Granot, P. Hansson, S. Lautenbacher, S. Marchand, O. Wilder-Smith, 2010, “*Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing*”, *Eur J Pain*, (4):339. doi: 10.1016/j.ejpain.2010.02.004.
- [22] D. Pud, Y. Granovsky, D. Yarnitsky, 2009, “*The methodology of experimentally induced diffuse noxious inhibitory control (DNIC)-like effect in humans*”, *Pain*, doi: 10.1016/j.pain.2009.02.015.

- [23] O. Höffken, Ö. S. Özgül, E. K. Enax-Krumova, M. Tegenthoff, C. Maier, 2017, “*Evoked potentials after painful cutaneous electrical stimulation depict pain relief during a conditioned pain modulation*”, *BMC Neurol*, 17(1):167. doi: 10.1186/s12883-017-0946-7.
- [24] D. M. Klyne, A. B. Schmid, G. L. Moseley, M. Sterling, P.W. Hodges, 2015, “*Effect of types and anatomic arrangement of painful stimuli on conditioned pain modulation*”, *J Pain*, 16(2):176-85. doi: 10.1016/j.jpain.2014.11.005.
- [25] G. Nielsen, L. Ricciardi, A. M. Meppelink, K. Holt, T. Teodoro, M. Edwards, 2017, “*A Simplified Version of the Psychogenic Movement Disorders Rating Scale: The Simplified Functional Movement Disorders Rating Scale (S-FMDRS)*”. *Mov Disord Clin Pract*, 11;4(5):710-716. doi: 10.1002/mdc3.12475.
- [26] Z. Hanzlíková, M. Kofler, M. Slovák, G. Věchetová, A. Fečíková, D. Kemlink, T. Sieger, E. Růžička, J. Valls-Solé, M. J. Edwards, T. Serranová, 2019, “*Prepulse inhibition of the blink reflex is abnormal in functional movement disorders*”. *Mov Disord*, 34(7):1022-1030, doi: 10.1002/mds.27706.
- [27] D. Le Bars, L. Villanueva, D. Bouhassira, J. C. Willer, 1992, “*Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in animals and in man*”, *Patol Fiziol Eksp Ter* (4):55-65, PMID: 1303506.
- [28] G. van Wijk, D. S. Veldhuijzen, 2010, “*Perspective on diffuse noxious inhibitory controls as a model of endogenous pain modulation in clinical pain syndromes*”, *J Pain*, 11(5):408-19. doi: 10.1016/j.jpain.2009.10.009.
- [29] M. Tinazzi, G. M. Squintani, K. P. Bhatia, A. Segatti, F. Donato, M. Valeriani, R. Erro, 2019, “*Pain in cervical dystonia. Evidence of abnormal inhibitory control*”, *Parkinsonism Relat Disord*. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.06.009.
- [30] G. Squintani, C. Geroin, A. Pasquali, E. Cavazzana, A. Segatti, M. Lippolis, C. Bonetto, E. Antelmi, M. Tinazzi, 2024, “*Abnormalities of the Descending Inhibitory Nociceptive Pathway in Functional Motor Disorders*”. doi: 10.1002/mds.29770.

