

Tesi di Laurea: “TACS modulation of human motor cortex specific networks”. (Sintesi)

Autore: D. Norata

Relatore: V. Di Lazzaro

Correlatore: J. Rothwell John

Introduzione

La possibilità di una stimolazione cerebrale non invasiva è stata un importante incentivo per la ricerca scientifica neurofisiologica degli ultimi 30 anni, prima con la stimolazione elettrica transcranica (TES)¹ e in seguito con la stimolazione magnetica transcranica (TMS)².

Stimolazione magnetica transcranica di M1

La Corteccia Motoria Primaria (M1) è un'area della corteccia cerebrale responsabile di molteplici funzioni motorie, inclusa la generazione del movimento volontario attraverso la depolarizzazione delle efferenze cortico-spinali. La TMS può essere utilizzata per eccitare tale area, causando la depolarizzazione prima dei neuroni corticospinali³ e poi dei secondi neuroni di moto. Il risultato finale è un potenziale evocato motorio (MEP), identificabile al livello del muscolo attivato⁴ e rilevabile con l'elettromiografia (EMG).

Tuttavia, quando si sottopone il cervello a un singolo stimolo, esso non evoca solamente un singolo potenziale d'azione, ma una risposta complessa di molti neuroni. Di tale risposta, il MEP rappresenta solamente una misura indiretta e filtrata a molteplici livelli⁵.

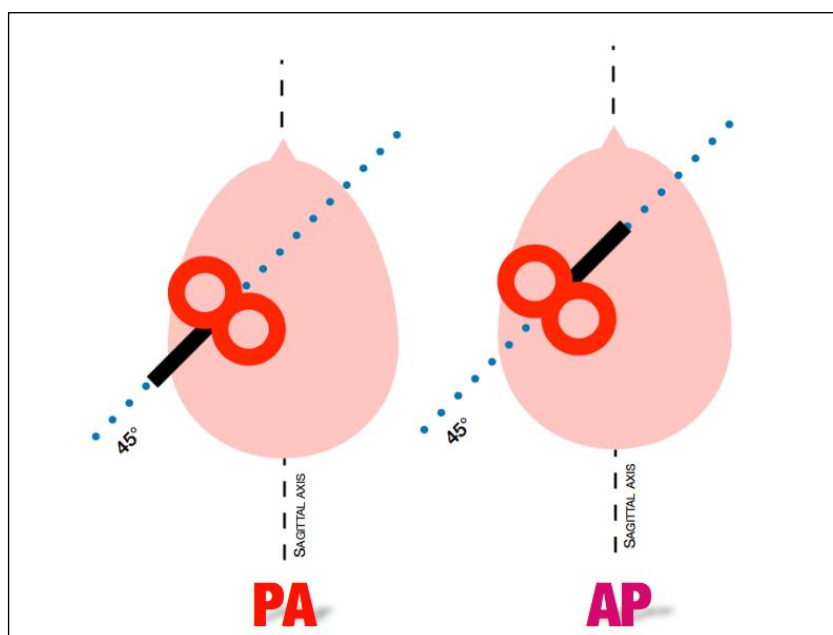


Fig. 1: Orientamento del coil durante la stimolazione magnetica transcranica (TMS)

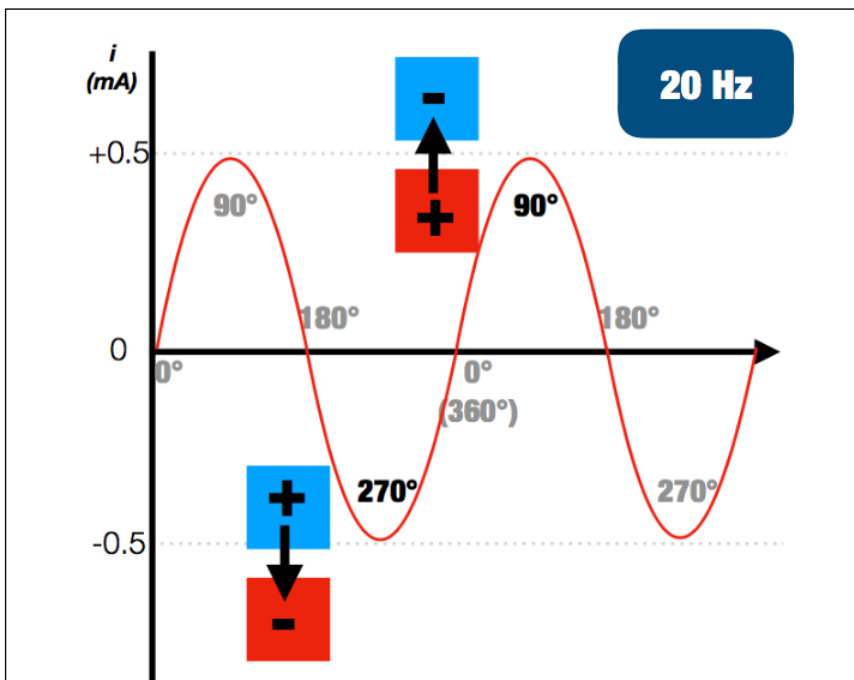
Ad esempio, infatti, le evidenze in Letteratura^{3, 5-8} suggeriscono che la stimolazione magnetica transcranica (TMS), a seconda che l'orientamento del coil sia postero-anteriore (PA) o antero-posteriore (AP; Fig. 1), recluti degli specifici networks interneuronali, i quali a loro volta avrebbero degli effetti diversi nel modulare l'eccitabilità dei neuroni corticospinali, effetti valutabili tramite lo studio dell'ampiezza dei potenziali evocati motori (MEPs).

Tuttavia, allo stato attuale della conoscenza scientifica, è ancora difficile riuscire a stabilire quale sia il reale effetto sulla variabilità inter- e intra-individuale dei MEPs.

Stimolazione transcranica di corrente alternata

La stimolazione transcranica di corrente alternata (tACS) è una tecnica di stimolazione cerebrale non invasiva derivata dalla tDCS (stimolazione transcranica di corrente diretta). Tale tecnica utilizza campi elettrici alternati che determinano correnti sinusoidali per aumentare e diminuire l'entità dei continui ritmi oscillatori fisiologici di specifiche aree cerebrali, in un modo dipendente dalla frequenza di stimolazione⁹⁻¹³: sincronizzando o desincronizzando le reti neurali di M1 (Area Motoria Primaria), si è dimostrata dunque in grado di modularne l'attività oscillatoria fisiologica¹³⁻¹⁷ (Fig. 2).

Inoltre, dagli studi precedenti eseguiti con coil orientato esclusivamente in senso postero-anteriore (PA), si è evinto che probabilmente gli effetti della stimolazione tACS sull'eccitabilità corticospinale dipendevano anche dalla fase istantanea in cui, al momento



della stimolazione TMS, si trovava la corrente sinusoidale tACS¹⁸⁻²¹.

Uno studio recente sulla tDCS (stimolazione transcranica di corrente diretta) ha segnalato che i cambi nell'eccitabilità di M1 sono anche influenzati dalla direzione della corrente: la tDCS, erogata con l'anodo sito posteriormente e il catodo anteriormente all'hotspot in M1 produce maggiori effetti rispetto alla configurazione classica, cioè con il catodo posto su M1 e l'anodo sulla regione parietale in corrispondenza

Fig. 2: Forma sinusoide dell'onda della stimolazione transcranica a corrente alternata (tACS)

della linea mediana (Pz; Sistema Internazionale 10-20; Fig. 3). La corrente elettrica risultante dalla nuova configurazione viaggia su un piano longitudinale, parallelo ai neuroni piramidali di M1 all'interno della parete anteriore del solco centrale, in modo da studiare meglio la maggior parte dei neuroni di M1 che li convergono²².

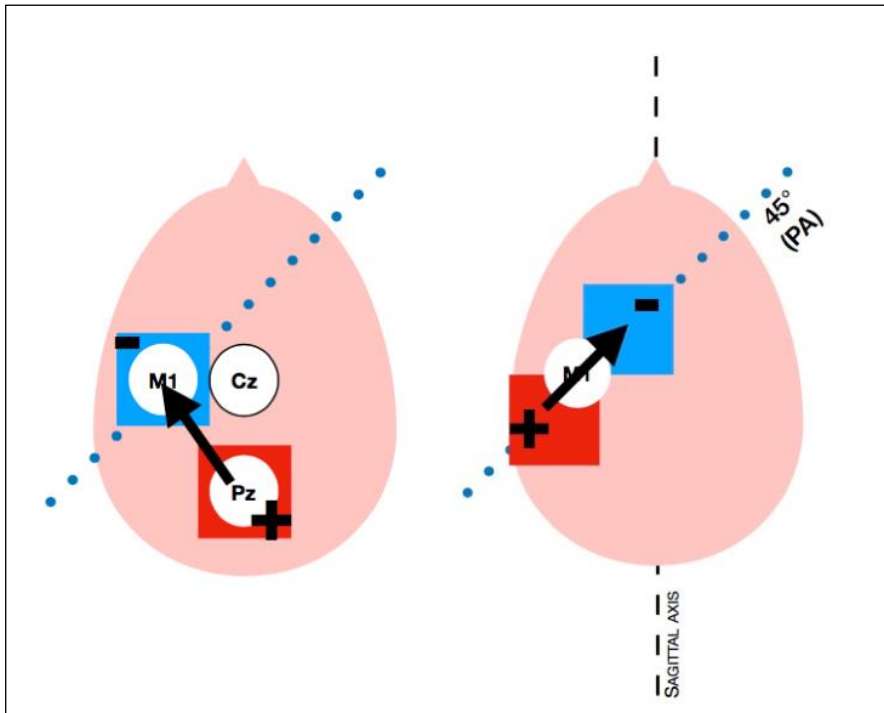


Fig. 3: Configurazione classica (a sinistra) e nuova configurazione (a destra) degli elettrodi usati durante la stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS) a confronto

Materiali e metodi

Nel nostro studio, abbiamo ipotizzato che la stimolazione tACS a 20Hz (ovvero a una frequenza approssimativamente simile a quella del ritmo oscillatorio fisiologico di M1) potesse avere un effetto sull'ampiezza dei MEPs, che fosse sia fase-dipendente sia opposto su MEPs evocati dalla TMS PA (stimolazione magnetica transcranica con coil orientato in senso postero-anteriore) o dalla TMS AP (stimolazione magnetica transcranica con coil orientato in senso postero-anteriore).

Sono stati reclutati 11 soggetti sani [età: 20-25 anni; media 22,45], tutti destrorsi e aderenti ai criteri di esclusione stabiliti dalle norme internazionali di sicurezza per TMS^{23, 24}.

Nell'esperimento condotto, quindi, abbiamo valutato eventuali cambiamenti dell'eccitabilità corticospinale indotti da una tACS a 20Hz. A questo fine, sono state analizzate sia le ampiezze che la variabilità dei MEPs, evocati dalla TMS con entrambi gli orientamenti del coil, sia prima che durante una tACS erogata con la nuova configurazione. Durante tale stimolazione tACS, la TMS veniva erogata in corrispondenza di una specifica fase della corrente sinusoidale (0-360°, 90°, 180° e 270°), affinché si potessero studiare eventuali effetti fase-dipendenti sull'eccitabilità corticospinale.

Risultati e Conclusioni

La ricca Metodologia Statistica richiesta dallo studio, ha portato a osservare, in parziale accordo con le nostre ipotesi, un effetto sull'ampiezza dei MEPs dipendente dall'orientamento del coil (Fig. 4) e dall'interazione tra la direzione di stimolazione magnetica (AP versus PA) e la fase di stimolazione elettrica (0-360°, 90°, 180°, 270°): i tracciati dalle ampiezze dei MEPs ad ogni fase tACS hanno effettivamente un profilo invertito se l'orientamento del coil TMS è PA o AP (cioè, i MEPs evocati dalla TMS PA sono più alti di quelli evocati dalla TMS AP per le fasi tACS 0-360° e 90°, mentre a 270° è il contrario; Fig. 5). Tuttavia tali differenze non hanno raggiunto la significatività statistica (Tab. 1 e 2).

Abbiamo però riscontrato che la tACS influenza significativamente la variabilità dei MEPs, calcolata secondo un coefficiente scientificamente riconosciuto^{25, 26}, che viene ridotta di circa il 10% durante la tACS a 20Hz con entrambi gli orientamenti del coil della TMS (Fig. 6).

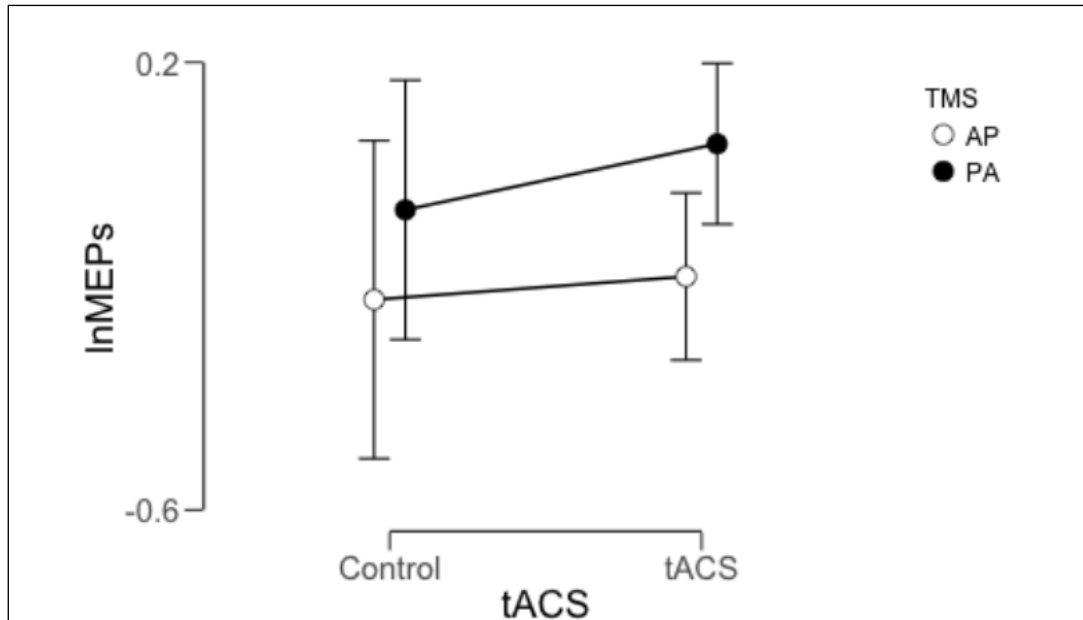


Fig. 4: Confronto (ANOVA a due vie) degli effetti della tACS sull'ampiezza dei potenziali evocati motori (MEPs) evocati dalla TMS con il coil orientato in senso postero-anteriore (PA) o antero-posteriore (AP)

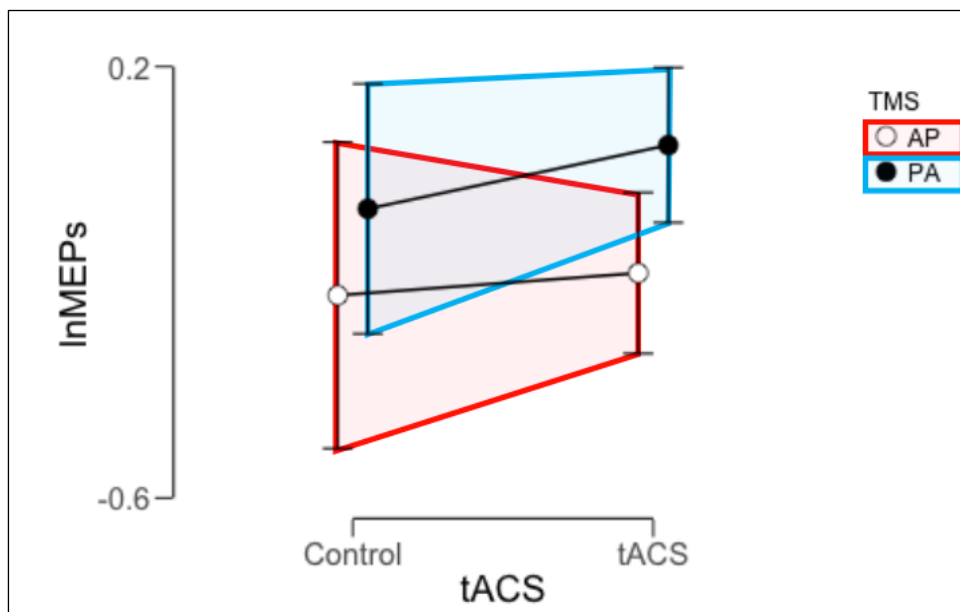


Fig. 5: Variazione delle ampiezze dei MEPs evocati dalla TMS (con il coil orientato in senso PA o AP) in relazione alla specifica e corrispondente fase della tACS erogata a 20Hz

ANOVA - InMEPs					
Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
tACS	0.112	1.000	0.112	0.516	0.474
TMS coil orientation	0.695	1.000	0.695	3.209	0.076
tACS * TMS coil orientation	0.026	1.000	0.026	0.120	0.730
Residual	22.968	106.000	0.217		

Tab. 1: Confronto (ANOVA a due vie) degli effetti della tACS sull'ampiezza dei potenziali evocati motori (MEPs) evocati dalla TMS con il coil orientato in senso postero-anteriore (PA) o antero-posteriore (AP)

ANOVA - Normalized MEPs					
Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
TMS coil orientation	3.288e-4	1.000	3.288e-4	0.010	0.922
tACS phase	0.012	3.000	0.004	0.120	0.948
TMS coil orientation * tACS phase	0.449	3.000	0.150	4.397	0.006
Residual	2.721	80.000	0.034		

Tab. 2: Confronto (ANOVA a due vie) della variazione delle ampiezze dei MEPs evocati dalla TMS (con il coil orientato in senso PA o AP) in relazione alla specifica e corrispondente fase della tACS erogata a 20Hz

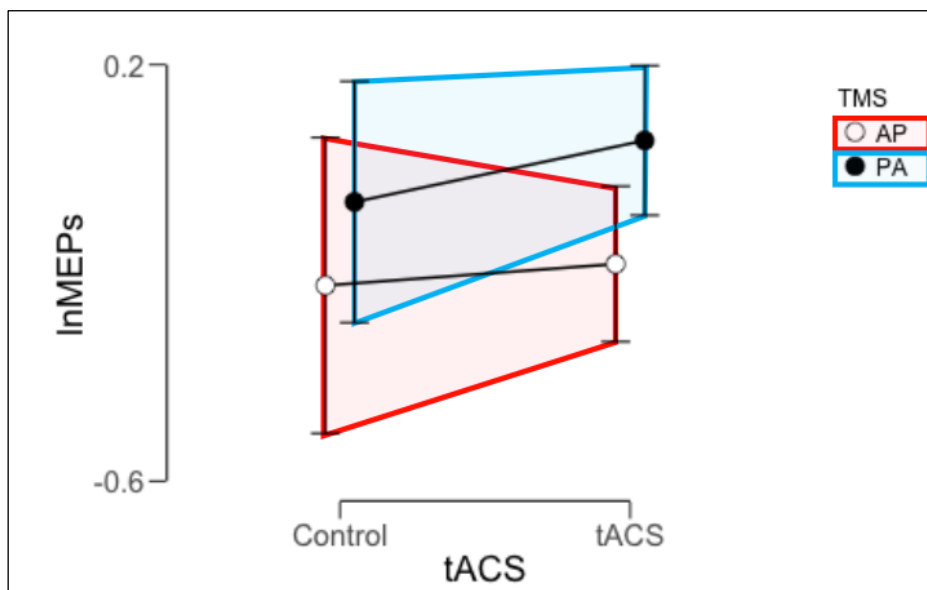


Fig. 6: Variabilità delle ampiezze dei MEPs in assenza di tACS (Control) o durante la sua erogazione (tACS)

Discussione

Con il nostro studio, abbiamo voluto analizzare allo stesso tempo gli effetti che la direzione della corrente tACS (usando la nuova configurazione tACS) e le fasi della tACS avevano sull'eccitabilità corticospinale, e tali effetti sono stati stabiliti utilizzando la TMS con il coil orientato non solo in senso postero-anteriore, ma anche antero-posteriore.

Il nostro scopo ultimo era quello di comprendere meglio le basi anatomiche e fisiche attraverso le quali la tACS modula gli specifici networks neuronali della Corteccia Motoria Umana.

Un importante limite, legato al nuovo approccio introdotto da questo studio, è che non è possibile comparare i risultati con quelli ottenuti da lavori precedenti, poiché il paradigma che abbiamo utilizzato è realmente unico.

Basi anatomiche

Nel 2014 e nel 2017, Rawji et al. hanno testato il nuovo montaggio tDCS bipolare, che produce una corrente elettrica ortogonale a M1 a livello della circonvoluzione precentrale, diretta costantemente dall'anodo sito posteriormente al catodo posto anteriormente, proprio trasversalmente rispetto alla rappresentazione della mano nella corteccia motoria. Nei loro esperimenti, dove la nuova configurazione tDCS è stata associata a una stimolazione TMS PA, è stato dimostrato che l'eccitabilità della corteccia cresce in maniera più consistente di quanto non faccia con la classica configurazione (caratterizzata da un grande elettrodo posto su M1 e la corrente elettrica parallela a M1).

In base ai nostri risultati, usando la tACS al posto della tDCS l'incremento dell'eccitabilità corticale non è più così evidente. Probabilmente ciò è dovuto alla natura intrinsecamente oscillatoria della tACS, motivo per cui il nostro studio è disegnato in modo tale da distinguere quello che accade durante le differenti fasi della tACS, ognuna delle quali caratterizzata da un differente vettore di campo elettrico. Questo è uno dei maggiori punti di divergenza tra la tACS e la tDCS, che al contrario è caratterizzata, una volta scelta la direzione della corrente, da un vettore di campo elettrico costante.

*Basi fisiche*²⁷⁻³²

La superiorità teorica della nuova configurazione della tACS non è solo dovuta a osservazioni anatomiche, ma anche ad alcune osservazioni fisiche che sono connesse alla regola del parallelogramma per la somma di vettori, in questo caso vettori di campo elettrico.

Per esempio, quando una TMS PA è associata a 90° tACS (la condizione più vicina agli esperimenti tDCS di Rawji), cioè con l'elettrodo posteriore che si comporta da anodo (+) e quello anteriore che si comporta da catodo (-), la nuova configurazione e quella classica mostrano caratteristiche diverse.

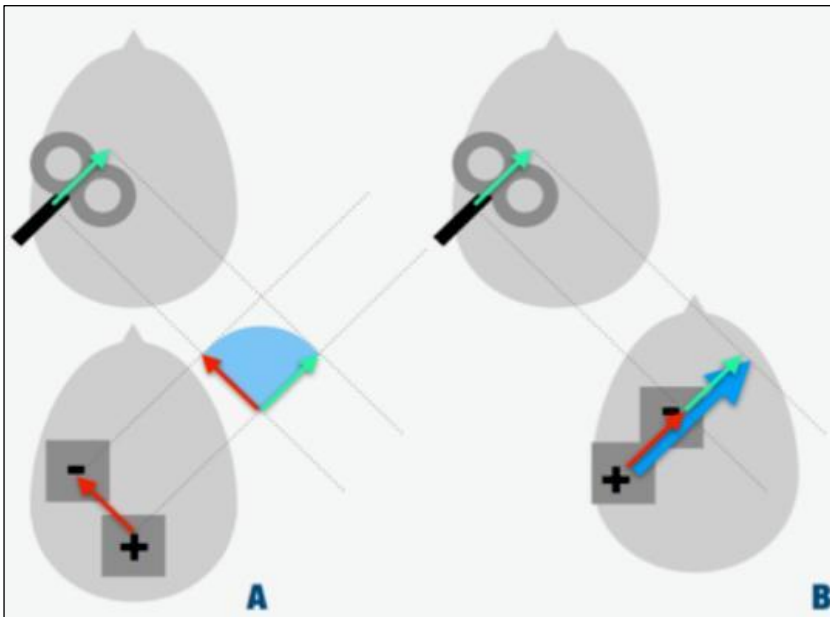


Fig. 7: La Fisica dietro l'uso delle configurazioni classica (A) e nuova (B) della tACS durante un singolo impulso PA TMS a 90° tACS

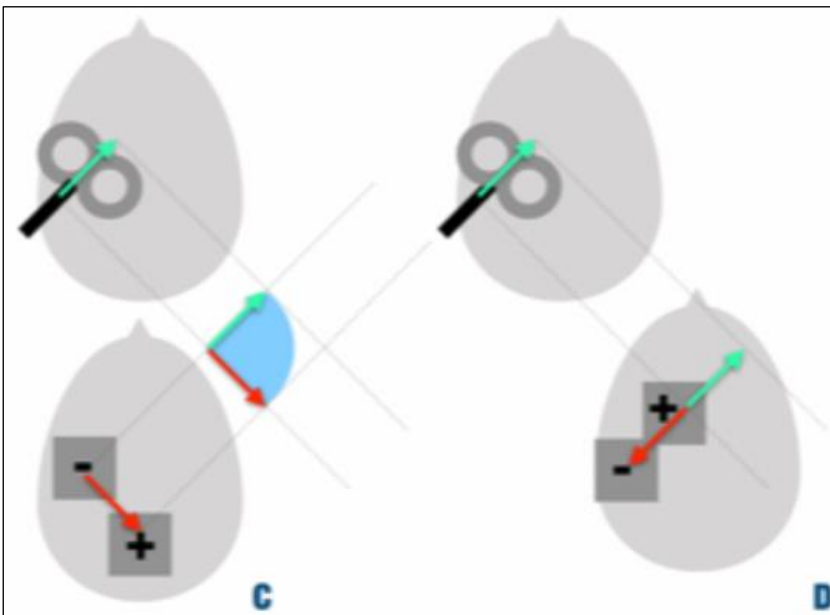


Fig. 8: La Fisica dietro l'uso delle configurazioni classica (C) e nuova (D) della tACS durante un singolo impulso PA TMS a 270° tACS

- Dalla configurazione classica della tACS dovrebbero risultare due vettori di campo elettrico, come visibile nella Figura 7, uno derivante dalla TMS PA (diretto in avanti e verso destra) e l'altro derivante dalla tACS 90° (diretto in avanti e verso sinistra). Dato che non conosciamo l'intensità (o modulo) di nessuno dei due, possiamo affermare che il vettore somma ha intensità e direzione sconosciute (ma la direzione è inclusa tra la direzione delle due componenti).

- Con la nuova configurazione della tACS, invece, la direzione dei due vettori derivati rispettivamente da TMS PA e tACS 90° corrisponde; così il vettore somma ha un'intensità dipendente da quella delle due componenti, ma una direzione conosciuta (la stessa delle due componenti).

Le Figure 8, 9 e 10 mostrano le variazioni dei rispettivi vettori nelle condizioni PA 270°, AP 90° e AP 270°.

Questa potrebbe essere una delle ragioni per cui il nuovo montaggio della tACS dovrebbe modulare l'eccitabilità corticale in maniera più consistente rispetto a quello classico, come effettivamente succede con la tDCS: c'è una variabile importante (la direzione del vettore somma) che è conosciuta.

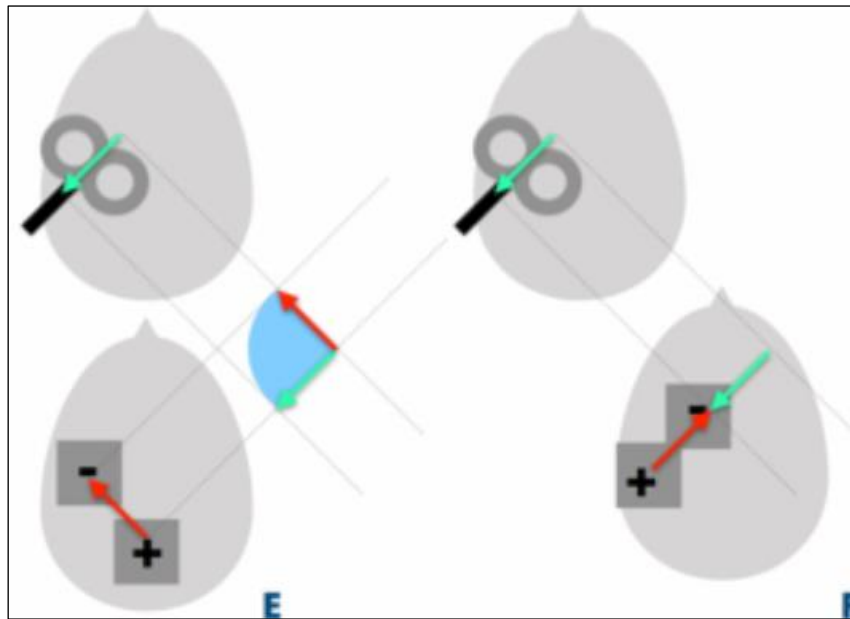


Fig. 9: La Fisica dietro l'uso delle configurazioni classica (E) e nuova (F) della tACS durante un singolo impulso AP TMS a 90° tACS

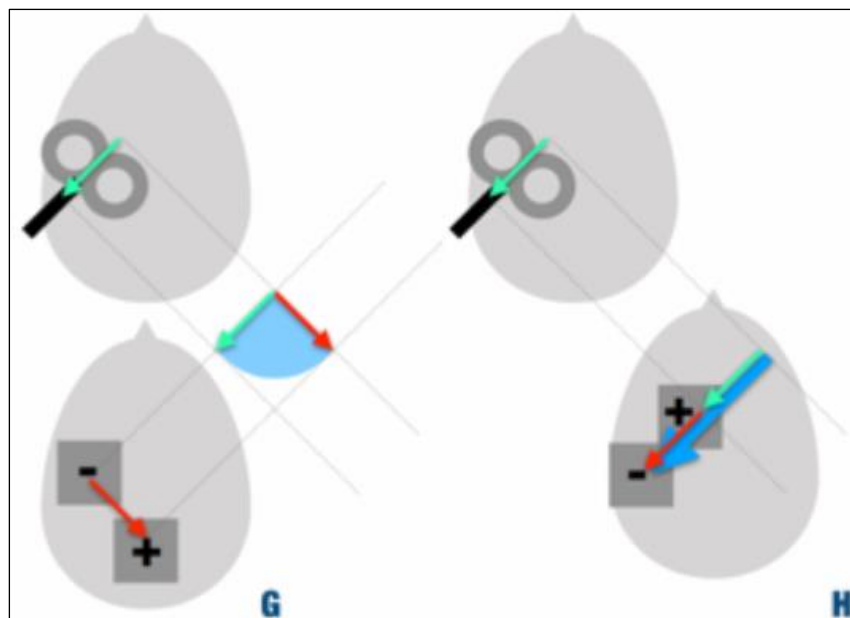


Fig. 10: La Fisica dietro l'uso delle configurazioni classica (G) e nuova (H) della tACS durante un singolo impulso AP TMS a 270° tACS

BIBLIOGRAFIA

1. Merton PA, Morton HB. Stimulation of cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 1980; 285: 227.
2. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985;1106-7.
3. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, et al. Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 109: 397-401.
4. Day BL, Dressler D, Maertens de Noordhout A, et al. Electric and magnetic stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *J Physiol* 1989; 412: 449-73.
5. Di Lazzaro V, Rothwell JC. Corticospinal activity evoked and modulated by non-invasive stimulation of the intact human motor cortex: Corticospinal activity and the human motor cortex. *J Physiol* 2014; 592: 4115-28.
6. Di Lazzaro V, Oliviero A, Saturno E, et al. The effect on corticospinal volleys of reversing the direction of current induced in the motor cortex by transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 2001; 138: 268-73.
7. Lazzaro VD, Ziemann U, Lemon RN. State of the art: Physiology of transcranial motor cortex stimulation. *Brain Stimulat* 2008; 1: 345-62.
8. Hamada M, Murase N, Hasan A, Balaratnam M, Rothwell JC. The Role of Interneuron Networks in Driving Human Motor Cortical Plasticity. *Cereb Cortex* 2013; 23: 1593-605.
9. Antal A, Paulus W. Transcranial alternating current stimulation (tACS). *Front Hum Neurosci* 2013; 7; 317.
10. Reato D, Rahman A, Bikson M, Parra LC. Low-Intensity Electrical Stimulation Affects Network Dynamics by Modulating Population Rate and Spike Timing. *J Neurosci* 2010; 30: 15067-79.
11. Reato D, Rahman A, Bikson M, Parra LC. Effects of weak transcranial alternating current stimulation on brain activity-a review of known mechanisms from animal studies. *Front Hum Neurosci* 2013; 7: 687.
12. Zaehle T, Rach S, Herrmann CS. Transcranial Alternating Current Stimulation Enhances Individual Alpha Activity in Human EEG. *PLoS ONE* 2010; 50: e13766.
13. Romei V, Bauer M, Brooks JL, et al. Causal evidence that intrinsic beta-frequency is relevant for enhanced signal propagation in the motor system as shown through rhythmic TMS. *NeuroImage* 2016; 126: 120-30.
14. Hari R. Human cortical oscillations: a neuromagnetic view through the skull. *Trends Neurosci* 1997; 20: 44-9.
15. Pogosyan A, Gaynor LD, Eusebio A, Brown P. Boosting Cortical Activity at Beta-Band Frequencies Slows Movement in Humans. *Curr Biol* 2009; 19: 1637-41.

16. Feurra M, Bianco G, Santarnecchi E, Del Testa M, Rossi A, Rossi S. Frequency-Dependent Tuning of the Human Motor System Induced by Transcranial Oscillatory Potentials. *J Neurosci* 2011; 31: 12165-70.
17. Joundi RA, Jenkinson N, Brittain J-S, Aziz TZ, Brown P. Driving Oscillatory Activity in the Human Cortex Enhances Motor Performance. *Curr Biol* 2012; 22: 403-7.
18. Ali MM, Sellers KK, Frohlich F. Transcranial Alternating Current Stimulation Modulates Large-Scale Cortical Network Activity by Network Resonance. *J Neurosci* 2013; 33: 11262-75.
19. Helfrich RF, Schneider TR, Rach S, Trautmann-Lengsfeld SA, Engel AK, Herrmann CS. Entrainment of Brain Oscillations by Transcranial Alternating Current Stimulation. *Curr Biol* 2014; 24: 333-9.
20. Nakazono H, Ogata K, Kuroda T, Tobimatsu S. Phase and Frequency-Dependent Effects of Transcranial Alternating Current Stimulation on Motor Cortical Excitability. *PLOS ONE* 2016; 11: e0162521.
21. Andrea Guerra, Pogosyan A, Nowak M, et al. Phase Dependency of the Human Primary Motor Cortex and Cholinergic Inhibition Cancellation During Beta tACS. *Cereb Cortex* 2016; 26: 3977-90.
22. Rawji V. tDCS changes in motor excitability are specific to orientation of current flow. *Brain Stimulat* 2017; 11: 1-10.
23. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol* 2009; 120: 2008-39.
24. Rossini PM, Burke D, Chen R, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol* 2015; 126: 1071-107.
25. Klein-Flugge MC, Nobbs D, Pitcher JB, Bestmann S. Variability of Human Corticospinal Excitability Tracks the State of Action Preparation. *J Neurosci* 2013; 33: 5564-72.
26. Vassiliadis P, Grandjean J, Derosiere G, de Wilde Y, Quemener L, Duque J. Using a Double-Coil TMS Protocol to Assess Preparatory Inhibition Bilaterally. *Front Neurosci* 2018; 12: 139.
27. Salinas FS, Lancaster JL, Fox PT. Detailed 3D models of the induced electric field of transcranial magnetic stimulation coils. *Phys Med Biol* 2007; 52: 2879-92.
28. Janssen AM, Oostendorp TF, Stegeman DF. The coil orientation dependency of the electric field induced by TMS for M1 and other brain areas. *J NeuroEngineering Rehabil* 2015; 12: 47.
29. Berger H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1929; 87: 527-70.
30. Nunez PL, Srinivasan R. *Electric Fields of the Brain: The Neurophysics of EEG*. 2nd ed. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2006.
31. American Electroencephalographic Society Guidelines for Standard Electrode Position Nomenclature: *J Clin Neurophysiol* 1991; 8: 200-2.

32. Eichelbaum S, Dannhauer M, Hlawitschka M, Brooks D, Knösche TR, Scheuermann G. Visualizing simulated electrical fields from electroencephalography and transcranial electric brain stimulation: A comparative evaluation. *NeuroImage* 2014; 101: 513-30.

Sintesi della Tesi di Laurea discussa il 27 luglio 2018

Dott. Davide Norata, Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Prof. Vincenzo Di Lazzaro, Cattedra di Neurologia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Prof. John Rothwell, Cattedra di Neurofisiologia, UCL Queen Square Institute of Neurology, Londra

Per la corrispondenza: dav.norata@gmail.com