

INTRODUZIONE

IL BLINK REFLEX

Il riflesso di ammiccamento (*Blink Reflex*, BR) è una chiusura delle palpebre in risposta a vari stimoli, che di solito è isolata. Negli uomini e nei primati tale chiusura è bilaterale e simultanea.

Dalle prime descrizioni di Thomas Willis (1621-1672) questa azione palpebrale “automatica”, involontaria, presente ubiquitariamente nei mammiferi, è stata comunemente considerata un tipico esempio di “movimento riflesso”, con funzione teleologica di “difesa” e protezione oculare.

Nella pratica clinica un BR è tipicamente evocato dal leggero tocco della cornea o della congiuntiva o dalla percussione con un dito sulla glabella.

Le caratteristiche elettrofisiologiche del BR nell’ uomo sono divenute oggetto di studio sistematico a partire dagli anni cinquanta (Kugelberg 1952, Tokunaga et al. 1958, Magladery e Teasdall 1961, Rushworth 1962, Hopf et al. 1965, Kimura et al. 1969, Penders e Delwaide 1969, Shahani 1970, Esteban e Giménez-Roldán 1973).

Un BR può essere provocato in laboratorio mediante l’ applicazione percutanea di uno stimolo elettrico, generalmente in corrispondenza dell’ emergenza del nervo sopraorbitario (SO), un ramo distale della branca oftalmica del nervo trigemino (V1). Caratteristicamente tale stimolo produce due risposte registrabili con EMG di superficie dai muscoli orbicolari degli occhi (OO): una precoce, detta R1, ipsilaterale allo stimolo, ed una tardiva, R2, espressa bilateralmente (ipsilaterale o “diretta”, detta R2i e controlaterale o “consensuale”, detta R2c) e responsabile dell’ ammiccamento palpebrale (Shahani e Young 1972, Snow e Frith 1989) (Figg. 1, 2).

La componente R1 del BR ha una latenza piuttosto stabile. R2 mostra tipicamente latenze relativamente variabili e maggiori ampiezze rispetto ad R1; la sua soglia di elicitazione inoltre è più bassa (Sanes et al., 1982). Anche la loro modulabilità differisce notevolmente (v. dopo).

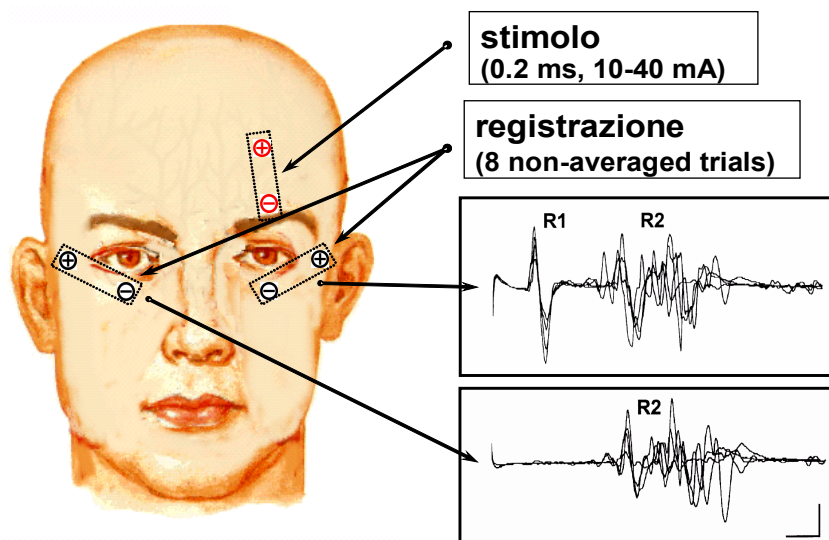


Figura 1.

Tali risposte sono prodotte dall'attivazione delle stesse unità motorie del muscolo OO a tempi dalla stimolazione corrispondenti alle rispettive latenze di R1 ed R2, quest'ultima verosimilmente con un pattern ripetitivo riverberante (Dengler et al. 1982, Hirakoa et al. 1977).

In normali condizioni basali di esame, le componenti descritte del BR, evocate dalla stimolazione di V1, sono registrabili solo nei muscoli OO (Shahani e Young 1972, Valls-Solé e Tolosa 1989). In alcune condizioni patologiche, come la rigenerazione aberrante del nervo facciale (Kimura et al. 1975) e l'emispasmo facciale (Esteban e Molina-Negro 1986, Ferguson 1978), e in condizioni di particolare tensione o di "pre-innervazione" volontaria nel soggetto normale, si può osservare una diffusione di R2 e

talora anche di R1, ad altri distretti facciali (ad esempio l' orbicolare della bocca). Una simile configurazione doppia delle componenti riflesse è stata descritta in animali primati e non-primati, sebbene con differenze riguardanti la bilateralità, l' ampiezza, la soglia e la modulazione di ciascuna delle due risposte (Evinger et al. 1993, Le Doux et al. 1997, Lindquist et al. 1970, Pellegrini et al. 1995, Tokunaga et al. 1958).

In soggetti normali si può ottenere una R1 “controlaterale” quando il BR viene registrato durante una chiusura palpebrale volontaria o subito dopo uno stimolo condizionante di un nervo anche distante (Soliven 1988). Tale risposta persiste dopo blocco del nervo sopraorbitario controlaterale (Csecsei 1982, Soliven 1988), suggerendo l' esistenza di connessioni crociate centrali che vengono attivate durante le descritte manovre facilitatorie (Willer 1984).

Nel BR umano esiste una terza componente, successiva ad R2 e detta risposta R3 (fig. 2), descritta per la prima volta da Penders e Delwaide (1973) e considerata un reperto sporadico, irregolare, prevalente nei soggetti giovani. Studi successivi (Rossi et al. 1989 a, Ellrich e Hopf 1996) hanno dimostrato la comparsa sistematica o quasi di tale componente tardiva del BR quando viene usata un' intensità di stimolazione elettrica adeguatamente elevata.

R3 è bilaterale e registrabile anche con la stimolazione dei nervi infraorbitario e mentale. Si suppone che sia mediata prevalentemente da afferenze nocicettive (Rossi et al. 1989 a) e che il suo centro di integrazione risieda nelle strutture midollari cervicali connesse col nucleo trigeminale spinale (*subnucleus caudalis*) (Rossi et al. 1989b), sebbene una sua alterazione, consensuale a quella di R2, sia stata descritta in lesioni del tronco encefalico; pertanto, le due componenti (R2 ed R3) probabilmente condividono le stesse vie centrali e forse anche quelle periferiche. La latenza media di comparsa di R3 è di circa 80 ms (Ellrich e Hopf 1996).

La presenza di R3, accettata negli uomini come componente del BR normale, è eccezionale negli animali (Tamai et al. 1982).

A fini metodologici, in particolare per quel che riguarda gli studi di eccitabilità del riflesso, è importante considerare che spesso R3 può comparire anche a basse intensità di stimolazione e crescere in ampiezza in modo lineare con l' incremento di questa, divenendo non facilmente distinguibile da R2, specie in condizioni patologiche (Esteban 1999).

Anche la stimolazione elettrica di V2 e V3 in corrispondenza dei rispettivi fori di emergenza determina risposte riflesse nei muscoli OO. L' equivalente della componente R1 è più difficile da evocare con la stimolazione di V2 e, ancor di più, di V3 (Kimura 1989). Una risposta R2 bilaterale è evocabile invece costantemente con la stimolazione di V2 e di V3, sebbene siano necessarie maggiori intensità per ottenere risposte stabili e le latenze di comparsa di queste siano più lunghe, specie con stimolo di V3 (Esteban 1999).

Parametri elettrofisiologici di R1 ed R2.

Latenza (ms): misurata all' *onset* delle componenti riflesse rispetto alla stimolazione. Per R1 si considera il valore minimo. Per R2, considerata la sua intrinseca variabilità, si calcola il valore medio tra quelli minimo e massimo della risposta ipsilaterale in diversi trial successivi.

Latenza differenziale (ms): è la differenza tra le latenze di R2i ed R2c per ogni lato di stimolazione. Un secondo valore differenziale si calcola tra le latenze di R2i ottenute dai due lati.

Ampiezza (mV): massimo valore in mV misurato "picco a picco" di R2, per i dati grezzi; "linea di base-picco" per i dati rettificati ed integrati.

Durata (ms): misurata dall' *onset* al ritorno alla linea di base delle risposte.

Area (mV/ms): è una misura automatica dell' integrale delle risposte rettificate e mediate in diversi trial consecutivi.

Valori Normali.

Kimura (1983, 1989): latenza media: R1 10.5 ± 0.8 ms; R2 30.5 ± 3.4 ms (valori massimi rispettivamente 13 e 40 ms). Latenza differenziale (R2i-R2c) < 5 ms; latenza differenziale R1 dx-sin ed R2i dx-sin < 1.2 e 7 ms rispettivamente.

Esteban (1986): latenza media: R1 10.4 ± 0.5 ms; R2 31.4 ± 2.3 ms. Latenza differenziale (R2i-R2c) 1.2 ± 1.8 ms. Ampiezza media R2 0.5 ± 0.3 mV. Durata R2 38.5 ± 11.5 ms.

Shahani (1970): latenza media: R1 10.8 ± 3.2 ms; R2 34.5 ± 4.9 ms.

Il rapporto tra le latenze di R1 e della risposta diretta M da stimolo del nervo faciale (valore normale 3-4) può aiutare a stabilire la sede, prossimale o distale, della lesione del faciale. Ampiezza e durata sono parametri poco affidabili; mostrano una notevole variabilità interindividuale e sono pesantemente influenzati dall' intensità di stimolazione impiegata.

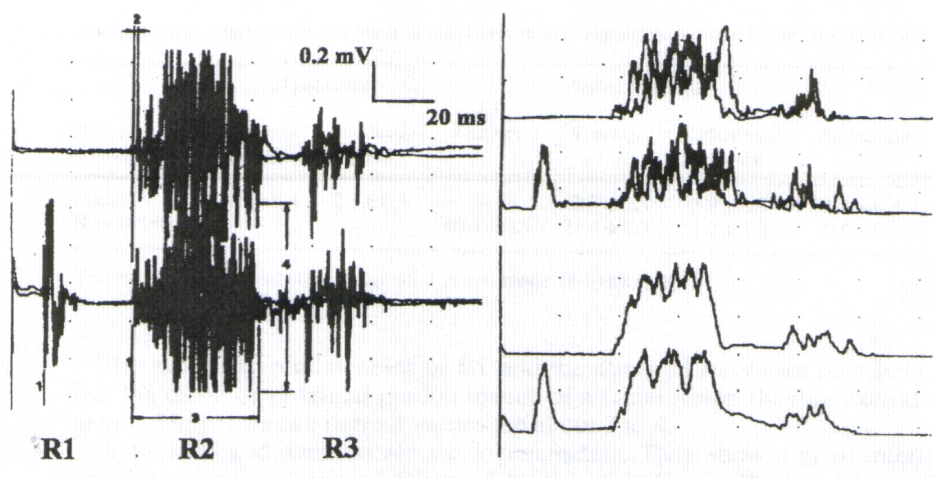


Figura 2. Da Esteban 1999.

Basi anatomiche del Blink Reflex.

Le vie periferiche.

Le fibre cutanee trigeminali costituiscono la branca afferente del BR evocato elettricamente. Questo postulato è stato dibattuto fino a poco tempo fa. In particolare la risposta precoce è considerata da molti autori, di origine miotatica (Broggi et al. 1973, Kugelberg 1952, Messina 1975, Tokunaga et al. 1958). Shahani e Young (1969, 1970, 1972a,b) per primi hanno dimostrato la natura cutanea di entrambe le risposte R1 ed R2 negli uomini, calcolando la velocità di conduzione afferente.

Attualmente esistono dati contrastanti circa i diversi tipi di fibre cutanee prevalentemente implicati in ciascuna delle due componenti. Alcuni sostengono che R1 origini da fibre esteroceettive A β mieliniche di medio calibro, mentre R2 da fibre nocicettive A δ mieliniche di piccolo calibro. Gli elementi a sostegno di tale ipotesi vengono dall'osservazione della grave alterazione o abolizione di R1 nelle neuropatie periferiche con prevalente coinvolgimento delle fibre sensitive di grande calibro, in cui R2 è invece poco compromessa o preservata (Kimura 1989), sebbene il minor numero di fibre afferenti per R1 potrebbe rendere tale componente più vulnerabile in corso di lesioni trigeminali extra-assiali.

Alcune procedure analgesiche, come l'inalazione di ossido nitrico, influenzano R2 più di R1 (Willer et al. 1984), sebbene altri farmaci analgesici determinino minori effetti sia su R1 sia su R2 rispetto a quelli sul riflesso corneale e sulla componente R3 (Crucchi et al. 1991, Fabbri et al. 1992). Stimoli laser dolorosi applicati sul foro sopraorbitario evocano risposte equivalenti ad R2 ed R3, ma non una risposta corrispondente ad R1 (Ellrich et al. 1997).

Nonostante ciò probabilmente entrambi i tipi di fibre cutanee concorrono alla conduzione afferente delle componenti R1 ed R2 del BR. È di comune osservazione in neurofisiologia clinica la comparsa anticipata di R2 rispetto ad R1. La soglia di

elicitazione elettrica relativamente più bassa di R2 (Sanes et al. 1982), che coincide pressappoco con la soglia percettiva, potrebbe dipendere dalla precoce attivazione delle fibre A β a bassa soglia. L' incremento dell' intensità di stimolo provoca un parallelo potenziamento di entrambe le risposte. Stimoli di bassa intensità, che attivano solo le fibre A β , evocano risposte R1 ed R2 nella cavia, e stimoli più intensi, in grado di attivare anche le fibre A δ , producono un potenziamento di entrambe le risposte (Pellegrini et al. 1995).

In due casi di analgesia congenita dovuta a neuropatie sensitive autonome ereditarie tipo IV e V, è stata descritta l' alterazione di entrambe le componenti, R1 ed R2, del BR; questi pazienti avevano normali conduzioni nervose sensitive allo studio di routine e la biopsia del nervo surale mostrava una lesione selettiva delle fibre di piccolo calibro con risparmio di quelle di medio e grosso calibro (Esteban 1999).

La componente più tardiva R3 è probabilmente mediata da fibre afferenti di tipo A δ , sebbene possa essere implicato anche un meccanismo centrale nella sua genesi (Ellrich et al. 1997).

La via efferente del BR è costituita da un gruppo di motoneuroni del nucleo faciale e dalle relative fibre motorie del nervo faciale destinate ai muscoli OO.

Le vie centrali.

Le differenze di conduzione afferente periferica non possono spiegare le caratteristiche distintive delle due componenti del BR: i circuiti centrali responsabili di R1 ed R2 devono essere differenti (Fig. 3).

Le prime osservazioni sperimentali dimostrarono che la sezione del tratto trigeminale spinale induce severe alterazioni di R2, preservando R1 (Kugelberg 1952, Tamai et al. 1986). Esisteva inoltre l' evidenza clinica di un coinvolgimento selettivo di R1 nelle lesioni del ponte (Kimura 1970, Namerow e Etemadi 1970) e dell' integrità di questa

risposta, con alterazione di R2, nelle lesioni bulbari laterali (Tab. 1) (Kimura e Lyon 1972, Ongerboer de Visser e Kuypers 1978).

L' arco riflesso di R1 ha il suo centro di integrazione nel nucleo trigeminale principale pontino. Il suo circuito ha un' organizzazione oligosinaptica con tre neuroni, nel ganglio di Gasser, nel nucleo trigeminale principale e nel nucleo faciale, ed almeno un interneurone tra le ultime due strutture (Tamai et al. 1986, Trontelj MA e JV 1978). Non è completamente chiaro se questo/i interneurone/i situati nella parte craniale della formazione reticolare laterale (Inagaki et al. 1989, Tamai et al. 1986) partecipino anche alla via polisinaptica di R2 nell' uomo. È inoltre verosimile l' esistenza di una via crociata, necessariamente costituita da una breve catena interneuronale, alla base della già citata osservazione, in alcuni casi, di una risposta R1 controlaterale.

La necessaria esistenza di una connessione interneuronale tra il V ed il VII paio di nervi cranici era stata già ipotizzata da Cajal (1909) che scriveva "*malgré l' excellence de l' imprégnation (...) des collatérales du trijumeau (...) nous n' avons jamais vu dans nos préparations les fibres (...) se terminer dans le noyau facial*" e "*(...) les collatérales directes qui uniraient ces deux organes (...) nous ne les avons jamais vues*".

Per la risposta R2 la via centrale è multisinaptica. Holstege et al. (1986a, b) postularono che, nella genesi della componente R2 del BR, fosse implicata un' area premotoria per il blink localizzata nel tegmento ponto-bulbare, che proietterebbe al pool motoneuronale per il blink nel nucleo faciale.

Il ramo centrale dei neuroni di prim' ordine del ganglio di Gasser, decorrendo lungo il tratto trigeminale spinale, raggiunge i neuroni di second' ordine situati nel nucleo trigeminale spinale. Da qui, un lungo sistema interneuronale ascendente, stabilisce la connessione con il nucleo faciale ipsi e controlaterale. Questa via multisinaptica include il sistema propiobulbare laterale della formazione reticolare, situato medialmente al nucleo trigeminale spinale (Hirakoa et al. 1977, Ongerboer de Visser e Kuypers 1978).

La connessione trigemino-faciale per la risposta R2 diretta, e l'incrocio della linea mediana per la risposta R2 controlaterale, si verificherebbero a livello bulbare caudale (Aramideh et al. 1997). Recenti dati sperimentali, basati su osservazioni elettrofisiologiche ed anatomiche sulle cavie, hanno incluso la divisione caudale del nucleo trigeminale spinale nel circuito della risposta R1 ed il metamero C1 del midollo spinale in quello della R2 (Pellegrini et al. 1995). Questi risultati apparentemente in contrasto con le attuali conoscenze dei circuiti centrali del BR umano potrebbero essere spiegati dal diverso "peso" sinaptico dei circuiti di R1 ed R2 nei primati e nei non-primati.

Per la componente R3 del BR è stato proposto recentemente un circuito simile a quello di R2, sebbene più prolungato (Ellrich 1996). Resta comunque in discussione la possibilità di un coinvolgimento dei primi segmenti spinali cervicali (Rossi 1989).

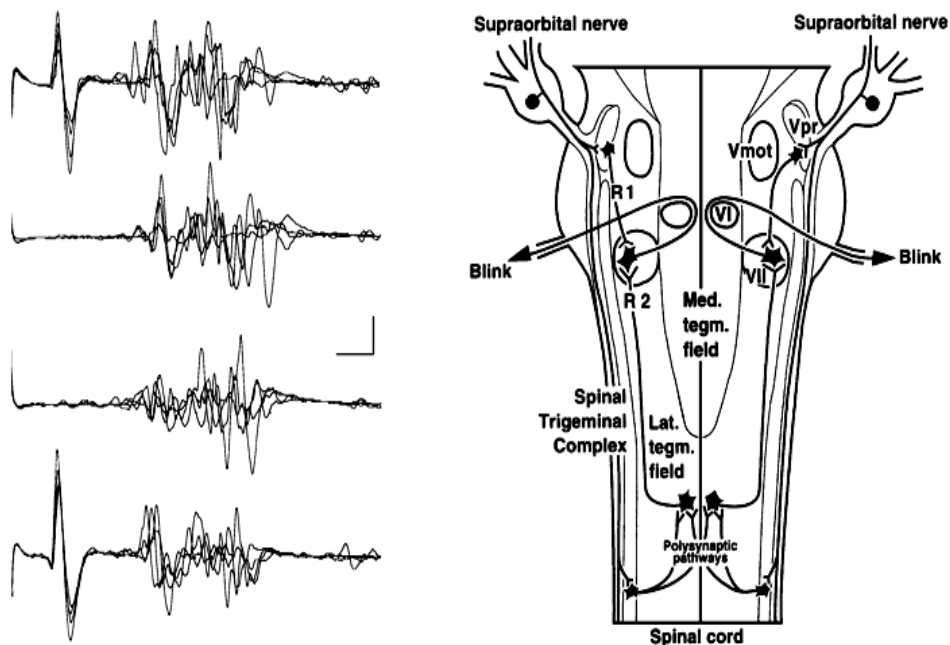
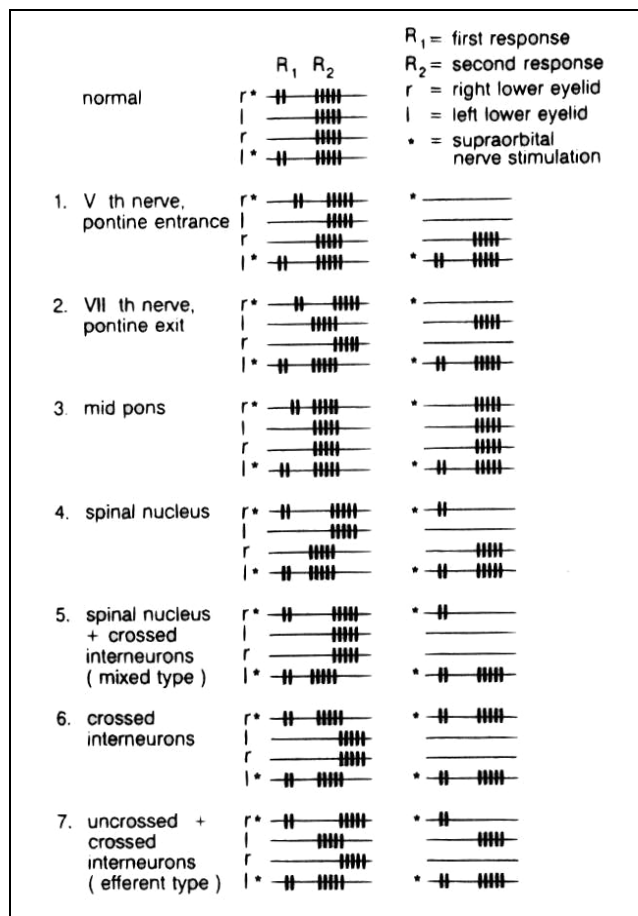


Figura 3. Da Cruccu e Deuschl 2000.

Tabella 1. Classificazione topografica lesionale

Lesione anatomica	Tipo lesionale	Stimolo lato affetto			Stimolo lato non affetto		
		R1	R2		R1	R2	
			Ipsilat	Controtlat		Ipsilat	Controtlat
Nervo Trigemino Ponte Nucleo/Tratto trigeminale spinale Come C + formazione reticolare bulbare laterale Nervo Faciale	A	Ritardata/assente	Ritardata/assente	Ritardata/assente	Normale	Normale	Normale
	B	Ritardata/assente	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale
	C	Normale	Ritardata/assente	Ritardata/assente	Normale	Normale	Normale
	D	Normale	Ritardata/assente	Ritardata/assente	Normale	Normale	Ritardata/assente
	E	Ritardata/assente	Ritardata/assente	Normale	Normale	Normale	Ritardata/assente

Rappresentazione schematica dei tipi lesionali (da Aramideh e Ongerboer de Visser 2002).



Fattori che influenzano il Blink Reflex.

Una serie di fattori può modificare sostanzialmente l' ampiezza e l' eccitabilità delle risposte R2. La stimolazione sopra la soglia dolorosa incrementa la risposta e lo stesso accade con la stimolazione con treni di impulsi ad alta frequenza e di breve durata (tale effetto è comune ad altri riflessi polisinpatici).

La chiusura volontaria degli occhi aumenta l' ampiezza delle risposte e previene o riduce l' abitudine di R2. L' attenzione selettiva allo stimolo, come con l' autosomministrazione dello stesso, uno stato di tensione e timore, il calcolo aritmetico o l' esecuzione di un compito, modulano l' ampiezza e l' eccitabilità di R2 in modi diversi. Alcune di queste condizioni devono essere tenute in debita considerazione durante lo studio del BR nella pratica clinica e ancor più nell' elaborazione dei dati normativi (Esteban 1999).

Un fattore con potenziali effetti sul BR, scoperto di recente, è il tabagismo; anche una singola sigaretta fumata poco prima dell' esame può avere un effetto modulatore (Leon et al. 1997).

Una condizione che influenza in modo particolare il BR è il sonno. Il BR evocato con stimolo elettrico (Ferrari et al. 1972, Kimura et al. 1972) così come quello da stimolo acustico (Silverstein et al. 1980) o luminoso (Hoshina et al. 1991) mostrano una depressione delle risposte con aumento delle latenze di R2 durante le fasi di sonno N-REM e, al contrario, un' aumentata eccitabilità nello stadio REM. In questa fase c' è anche un' attività spontanea basale della muscolatura oculare (Silverstein et al. 1980). La situazione inversa, come è noto, si verifica per altri riflessi come quelli polisinpatici spinali del gatto, ed i riflessi monofasici da stiramento ed il riflesso H nell' uomo.

Controllo soprasegmentale e patologie che influenzano il blink reflex.

Neurotrasmettitori ed influenze farmacologiche.

Il BR è influenzato da molte strutture soprasegmentali che agiscono modulando la sua eccitabilità di base ed il modo in cui il riflesso risponde ai fattori che lo influenzano. Viene da alcuni ipotizzato un coinvolgimento diretto di alcune strutture come il talamo e la corteccia cerebrale nel circuito del riflesso (Chia 1997, Chia et al. 1993).

Corteccia cerebrale. Lesione emisferica e coma.

Sono state descritte, nell' uomo e nei primati, proiezioni dirette dalle aree motorie corticali al nucleo faciale ed alla formazione reticolare bulbare laterale (Jenny et al. 1987, Kuypers 1958).

Lesioni cerebrali emisferiche alterano le risposte del BR. Il tipo ed il grado di compromissione del BR dipendono dal tempo trascorso dall' esordio, dal decorso e dall' estensione della lesione. Nella fase acuta di un ictus cerebrale, la risposta precoce può essere lievemente e transitoriamente ritardata (Fisher et al. 1979). Nella fase di stato, la risposta R1 registrata dal lato paretico può anche risultare facilitata, probabilmente in seguito alla rimozione di una inibizione piramidale sui motoneuroni faciali (Berardelli et al. 1983). Le risposte tardive sono alterate più pesantemente e possono essere assenti o marcatamente attenuate dal lato affetto, anche per lunghi periodi. Un doppio stimolo elettrico di solito corregge le anomalie di R1 ma non quelle di R2. La discrepanza di comportamento tra R2 (polisinaptica) ed R1 (oligosinaptica) suggerisce una prevalente "disfacilitazione" a livello degli interneuroni piuttosto che a livello dei motoneuroni che rappresentano la via finale comune. Le anomalie di R2 sono presenti bilateralmente quando viene stimolato il lato clinicamente affetto della faccia, controlateralmente quando viene stimolato il lato sano. Ciò suggerisce una diffusa riduzione di eccitabilità

interneurone, controlaterale alla lesione emisferica. Lo studio TC cerebrale nei pazienti con alterazioni del BR dimostra una distribuzione delle lesioni emisferiche piuttosto vasta e disomogenea, con una tendenza tuttavia all' "overlap" sull' area rolandica inferiore. Questo dato è in parte contrastante con quello che evidenzia un significativo risparmio della regione post-centrale inferiore nei pazienti con BR normale. Tali evidenze suggeriscono nel complesso l' esistenza di una facilitazione crociata di questo riflesso, esercitata a livello degli interneuroni della formazione reticolare bulbare, da parte di ampie aree di corteccia, ma prevalentemente da quelle che recano la rappresentazione sensitiva della faccia (Kimura et al. 1985).

Una simile perdita di influenze soprasegmentali è molto probabilmente implicata nelle modificazioni del BR che si osservano nel coma di origine sopratentoriale. Le risposte R2 possono scomparire, mentre quelle R1 sono conservate (Lyon et al. 1972) almeno fino ad un' eventuale lesione troncoencefalica secondaria. Il livello di vigilanza, indipendentemente dal coinvolgimento delle vie lunghe sensitivo-motorie, ha mostrato una correlazione con il grado di depressione della R2 (Rumpl et al. 1982, Serrats et al. 1976). Nella morte cerebrale scompaiono entrambe le componenti del BR (Metha et al. 1976).

Gangli della base. Patologie extapiramidali.

È noto da molti anni che le patologie dei gangli della base modificano alcuni parametri delle risposte del BR. In particolare è interessante osservare che le malattie di Parkinson e di Huntington, che hanno caratteristiche cliniche, fisiopatologiche e farmacologiche opposte, mostrano un pattern di risposte del BR distintivo ed opposto (Esteban et al. 1975).

Il BR nella malattia di Parkinson (PD) è caratterizzato da un aumento di ampiezza e una riduzione di latenza delle risposte tardive, nonché da un' aumentata eccitabilità con scomparsa dell' abitudine (Penders e Delwaide 1971, Rushworth 1962). Al contrario,

nella malattia di Huntington (HD), il BR è ipoeccitabile e le risposte R2 si adattano rapidamente e sono di bassa ampiezza ed aumentata latenza (Caraceni et al. 1976, Esteban et al. 1975). Nella prima condizione c'è una deplezione di dopamina nello striato dovuta alla degenerazione delle cellule dopaminergiche della parte compatta della sostanza nera. Nella seconda si verifica una relativa preponderanza dopaminergica striatale in seguito alla perdita dell' inibizione GABAergica strio-nigrica.

L' aumentata eccitabilità e la ridotta abitudine del BR sono state dimostrate anche in modelli sperimentali di Parkinsonismo (Basso et al. 1993).

Si ritiene generalmente che l' azione inibitoria dei gangli della base sui circuiti segmentali bulbo-pontini del BR si eserciti attraverso un lungo circuito comprendente la parte reticolata della sostanza nera, il globo pallido interno, il talamo e la corteccia cerebrale che, infine, proietterebbe alle strutture troncoencefaliche del BR, e in particolare al suo sistema interneuronale. Recentemente Basso ed Evinger (1996a,b) hanno proposto, sulla base di studi sperimentali farmacologici ed elettrofisiologici, l' esistenza di una via alternativa sottocorticale attraverso cui i gangli della base modulerebbero l' eccitabilità del BR. In particolare input inibitori giungono dai gangli della base (parte reticolata della sostanza nera) al collicolo superiore che normalmente ha un' azione di eccitazione tonica sui neuroni del nucleo del raphe magno; questi ultimi infine inibiscono i neuroni del nucleo trigeminale spinale coinvolti nel circuito del BR. In tale circuito sono coinvolti i neurotrasmettitori GABA e serotonina. Un eccesso di output inibitorio dai gangli della base, come avviene nella PD, spiegherebbe così l' ipereccitabilità del BR in questa malattia. L' interpretazione teleologica del controllo esercitato dai gangli della base sul BR attraverso questo circuito riguarda la modulazione dei comportamenti riflessi opposti di orientamento saccadico e di difesa (ammiccamento) in risposta a diversi stimoli sensoriali.

Il BR mostra una relazione diretta con i livelli di dopamina nel sistema nervoso centrale. Nel Parkinsonismo da neurolettici le alterazioni del BR sono del tutto simili a quelle riscontrate nella PD (Ferguson et al. 1978, Rushworth 1962); farmaci dopaminergici come l' amantadina, la L-Dopa o la lisuride usati nella terapia della PD, eliminano le relative alterazioni del BR (Caccia et al. 1972, Messina et al. 1972, Penders e Delwaide 1971, Sandrini et al. 1985), mentre ciò non avviene con la terapia anticolinergica (Ferguson et al. 1978, Penders e Delwaide 1971). Le caratteristiche del riflesso cambiano in accordo con le fluttuazioni motorie "on-off" e con la comparsa delle ipercinesie coreiche Dopa-correlate nei pazienti con PD in trattamento (Agostino et al. 1987, Iriarte et al. 1989). In familiari subclinici e in pazienti con HD all' esordio il pattern del BR tipico di questa malattia può essere slatentizzato con un carico esogeno acuto di L-Dopa (Esteban et al. 1981). Il BR può essere pertanto considerato un indicatore affidabile dell' attività dopaminergica centrale.

Da tempo è nota inoltre la sensibilità del BR e di alcune sue componenti (specie di quelle tardive) a molti farmaci, in particolare ipnotici, analgesici ed anestetici (Fine et al. 1992).

La nicotina, un farmaco con potente azione anti-nocicettiva, modifica tutte le componenti del BR (Evinger et al. 1988), in particolare la R3, ed il fumo anche di una sola sigaretta, può influenzare la risposta del BR nell' uomo (Leon et al. 1997).

ECCITABILITÀ DEL BLINK REFLEX

Valutazione e modificazioni patologiche.

Due sono i paradigmi principali usati per valutare la modulazione e l' eccitabilità di base del riflesso: l' abitudine ed i paradigmi con doppio stimolo.

Abitudine.

Il BR, come molti riflessi esteroceettivi, mostra un marcato fenomeno di *abitudine*, in particolare della sua componente R2. Il termine abitudine in riflessologia va inteso come la modificazione transitoria (mai a lungo termine) della risposta, indotta dalla ripetizione dello stimolo adeguato che l' ha evocata.

L' abitudine della risposta R2 è facilmente evidenziabile con la ripetizione degli stimoli a frequenze di 0,5 Hz o superiori (Fig. 4). Si definisce *indice di abitudine* di R2 la frequenza di stimolazione alla quale l' ultima risposta ipsilaterale, dopo una serie di dieci stimoli consecutivi, ha un' area (o ampiezza per durata) inferiore al 20 % di quella della prima risposta. Tale indice viene misurato indipendentemente per ciascun lato (Esteban et al. 1975). I valori normali sono tra 0,5 ed 1.

L' abitudine del BR, in confronto con quella di un riflesso flessore essenzialmente basata su un processo segmentale, è soggetta ad un controllo più complesso da parte di livelli superiori del sistema nervoso centrale (Dimitrijevic et al. 1972).

La risposta R1, oligosinaptica e prevalentemente extrareticolare, mostra scarsa implicazione nel fenomeno dell' abitudine; sono state invece riportate alcune modificazioni contraddittorie, compresa la facilitazione (Boelhouver e Brunia 1977, Shahani 1970). Al contrario R2 presenta una pronta tendenza all' abitudine probabilmente per la sua organizzazione troncoencefalica reticolare polisintattica.

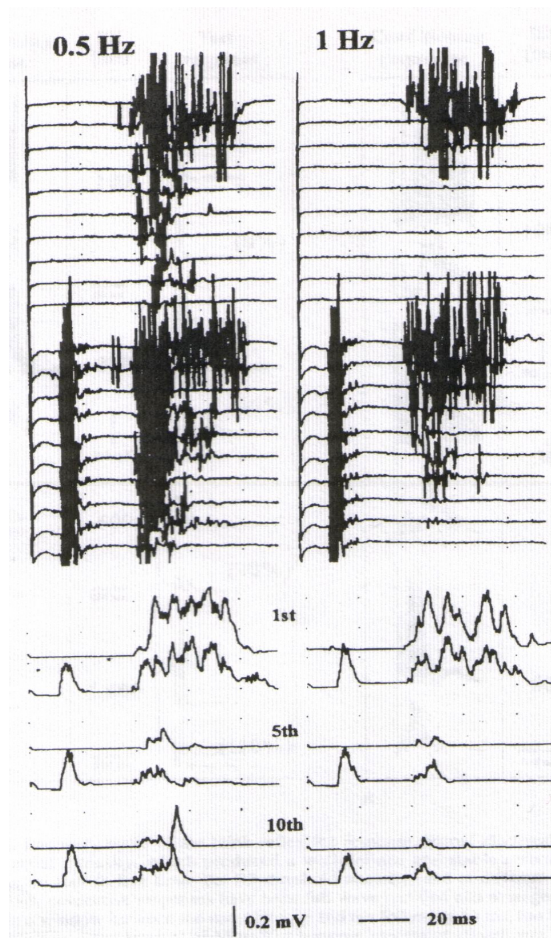


Figura 4. Abitudine. Da Esteban 1999.

Doppio stimolo. Ciclo di recupero.

Nel paradigma con doppio stimolo, entrambi gli stimoli somministrati sul foro di emergenza del nervo sovraorbitario hanno uguali caratteristiche ed intensità. Il primo è detto stimolo *condizionante*, il secondo stimolo *test*. La risposta allo stimolo test può essere modificata dal precedente stimolo condizionante in relazione alla durata dell'*intervallo interstimolo* (ISI) che li separa.

Risposte dipendenti da vie polisinaptiche come R2 sono fortemente modificate da un doppio stimolo a brevi ISI. Infatti la R2 test è virtualmente abolita ad ISI di circa 100 ms, per poi iniziare a recuperare progressivamente (di solito intorno all' ISI di 300 ms), raggiungendo il 100 % o più dell' ampiezza della risposta condizionante, ad ISI di durata superiore ad 1 secondo (fig. 5). Esprimendo i valori delle risposte test come

percentuali di quelle condizionanti ai diversi ISI e riportando i primi valori (%) sull'asse delle y ed i secondi (ISI) su quello delle x, si costruisce una curva o ciclo di recupero. La risposta R1 è scarsamente ed irregolarmente influenzata da tale paradigma (Kimura 1973). Negli animali tuttavia è stato descritto un comportamento simile per entrambe le risposte (LeDoux et al. 1997). Si suppone tradizionalmente (Kimura 1973) che i meccanismi responsabili dell'inibizione della risposta test abbiano un'organizzazione segmentale, intrinseca al circuito del riflesso ed essenzialmente correlata alle proprietà della rete interneuronale della formazione reticolare laterale (potenziali postumi iperpolarizzanti e refrattarietà interneuronale, attivazione di circuiti di feedback negativo, provocati dal passaggio dello stimolo condizionante). Una parziale alternativa a questa ipotesi, è derivata da recenti risultati sperimentali (Pellegrini ed Evinger 1995) e da studi sulla cefalea a grappolo (Lozza et al. 1997), che individuerrebbero il nucleo trigeminale spinale come parte attivamente coinvolta nel processo. Pellegrini ed Evinger (1995), in particolare, hanno dimostrato che il processo di soppressione della risposta test (sia R1 che R2) è specifico della branca afferente del riflesso, piuttosto che il risultato dell'attività motoria evocata dallo stimolo condizionante, tanto che stimoli condizionanti acustici o esteroceettivi di altre branche trigeminali, che pure evocano un ammiccamento, non determinano soppressione della risposta allo stimolo test sul nervo sopraorbitario. Per converso, stimolazioni del nervo sopraorbitario, sottosoglia per il BR, inibiscono la risposta al successivo stimolo test sopra soglia. Queste evidenze portano pertanto ad individuare nel nucleo trigeminale spinale un'importante sede di "gating" sensoriale alla base della soppressione della risposta test nel paradigma con doppio stimolo. Gli stessi autori inoltre hanno dimostrato, in tale processo, l'attivazione di recettori GABA-B a livello di tale nucleo. Lozza e coll. (1997) hanno successivamente evidenziato, in pazienti con cefalea a grappolo studiati durante un periodo di crisi, una minore inibizione della R2 ipsilaterale

al lato sintomatico, usando un paradigma con doppio stimolo del nervo sovraorbitario (SO), ed una ridotta inibizione della R2 in entrambi i lati (sintomatico ed asintomatico), quando lo stimolo condizionante era extrasegmentale (stimolo elettrico del dito indice). La somministrazione di Naloxone e.v. inoltre, riduceva in parte il grado di soppressione della R2 test indotta dagli stimoli condizionanti al dito indice. Gli autori interpretavano l'effetto ipsilaterale, segmentale, osservato col doppio stimolo SO, come risultato della sensibilizzazione del nucleo trigeminale spinale, forse dovuta all'irritazione del nervo oftalmico nella regione del seno cavernoso, tipica della patogenesi della cefalea a grappolo; l'effetto bilaterale ottenuto con lo stimolo condizionante extrasegmentale invece, veniva attribuito ad una verosimile ipoattività dei nuclei reticolari (normalmente attivati da afferenze periferiche polimodali e ad azione inibitoria sul circuito del BR), probabilmente dovuta ad una ridotta attività oppioide centrale.

Dopo le prime descrizioni di base di Kimura (1973) della tecnica del doppio stimolo applicata al BR, questa è stata utilizzata in numerose ricerche successive, ed è piuttosto sorprendente la loro notevole disomogeneità metodologica. Questa variabilità è dovuta principalmente a differenze nella modalità di stimolazione e nei criteri di analisi degli effetti condizionanti. Ne consegue che i valori di recupero presentano grandi variazioni ed è pressoché impossibile dare risultati numerici normali senza rischio di errore (tab. 2). La standardizzazione della metodica consentirebbe di fissare gli indici di recupero a determinati ISI (Eekhof et al. 1996), permettendo il follow up di casi individuali così come il confronto dei risultati di diversi studi su gruppi.

I risultati degli studi effettuati su una vasta serie di patologie neurologiche invece, nonostante i commenti precedenti, sono sorprendentemente omogenei. Un'ipereccitabilità di base della risposta R2 ed un precoce e rapido ciclo di recupero della stessa, sono stati descritti nei parkinsonismi (Kimura 1973), nelle distonie focali o segmentali come il blefarospasmo, il torcicollo spasmodico e la disfonia spasmodica

(Berardelli et al. 1985, Cohen et al. 1989, Eekhof et al. 1996, Tolosa et al. 1988), o addirittura nelle forme generalizzate di distonia (Nakashima et al. 1990), nell'emispasmo faciale (Eekhof et al. 1996, Valls-Solé e Tolosa 1989), nella sindrome con movimenti periodici degli arti inferiori nel sonno (Briellman et al. 1996) e nella sindrome di Gilles de la Tourette (Smith e Lees 1989). In tutti questi casi è tuttora accettato generalmente come meccanismo fisiopatologico comune, un incremento della facilitazione (o una disinibizione) del pool interneuronale troncoencefalico implicato nel BR, riconducibile verosimilmente ad un abnorme output dai gangli della base.

Un' ipoeccitabilità del riflesso è stata evidenziata invece nella malattia di Huntington (Caraceni et al. 1976, Esteban e Giménez-Roldán 1975, Ferguson et al. 1978).

Il condizionamento della risposta R2 nella metodica del doppio stimolo, può anche essere ottenuto usando uno stimolo esterocettivo controllato applicato ad una regione periferica distante dalle afferenze trigeminali segmentali (Valls-Solé et al. 1994). Si suppone che con tale paradigma, la soppressione della R2 test sia mediata dai nuclei reticolari troncoencefalici, che a loro volta inibirebbero la formazione reticolare bulbare laterale implicata nel BR. Così, usando uno stimolo condizionante extra-segmentale, sarebbe possibile esplorare lo stato funzionale delle vie reticolari discendenti del troncoencefalo. Abbiamo già visto come, usando tale metodica, Lozza et al. (1997) abbiano ipotizzato una ipoattività di tali nuclei reticolari nei pazienti con cefalea a grappolo. Al momento, non si sa nulla circa la modulazione della risposta R3 con stimoli appaiati o ripetitivi. In alcuni casi è stato osservato un comportamento simile a quello di R2, forse con una soppressione più profonda e prolungata (fig. 5).

Autori	ISI (in secondi)				
	0,1	0,2	0,3	0,5	1
Berardelli et al. 1985	?		3,5	15	34
Valls-Solé et al. 1989	0		3,5	8	53
Iriarte et al. 1989	10		35	50	77
Cohen et al. 1989	40(0,15s)		52	60	70
Nakashima et al. 1990	10		22(0,25 s)	40	57
Aramideh et al. 1997		15		29	
Eekhof et al. 1996		16	21	30	52
Lozza et al. 1997	16,1	18	25	37	43,4 (0,6 s)
Esteban et al 1999	2	13	25	59	64

Tabella 2. I valori normali medi della R2 test sono espressi come percentuale della corrispondente R2 condizionante.

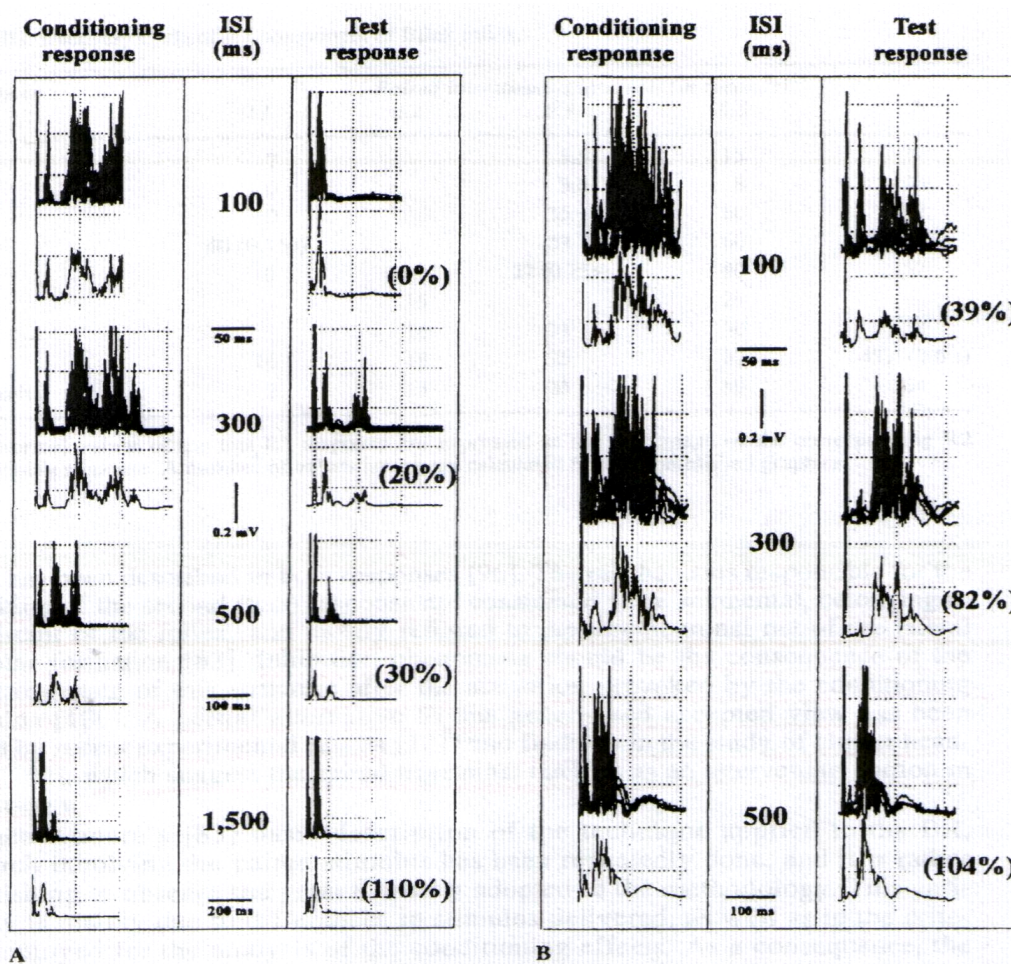


Figura 5. Sono riportate, per ogni ISI (100-1500 ms), le tracce rettificate e mediate di 5 trials consecutivi effettuati con la metodica del doppio stimolo. L' area delle risposte viene calcolata automaticamente in una finestra compresa tra l' onset ed i successivi 50 ms. In **A** sono riportati i risultati in un soggetto normale: La R2 test compare a partire dall' ISI di 300 ms per poi recuperare progressivamente agli ISI più lunghi. In questo soggetto si nota la presenza costante di una risposta R3, che non recupera tuttavia neanche all' ISI più lungo. In **B** sono riportati i risultati in un paziente con blefarospasmo; si nota il recupero notevolmente facilitato di R2. In ciascuna coppia di tracce quella superiore rappresenta le risposte rettificate sovrapposte, quella inferiore la rispettiva media. Da Esteban 1999.

LA STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA (TMS)

Cenni storici.

Alla fine del 1800 cominciarono i primi tentativi di stimolare varie regioni cerebrali negli animali. Fritsch (1870) e Ferrier (1876) stimolarono la corteccia motoria animale ottenendo risposte motorie evocate nei muscoli degli arti controlaterali. Il primo tentativo di stimolazione della corteccia umana fu fatto da Bartholow (1874), che stimolò la corteccia cerebrale esposta in un soggetto con una frattura cranica. Più tardi Penfield e Jasper (1954) esplorarono sistematicamente il cervello umano mediante stimolazione elettrica in corso di interventi chirurgici, disegnando il noto *homunculus*, in cui sono illustrate schematicamente le rappresentazioni motorie corticali delle varie parti del corpo.

Nel frattempo iniziavano i tentativi di stimolazione cerebrale attraverso lo scalpo intatto. Gualtierotti e Paterson (1954) applicarono treni di stimoli elettrici simili a quelli convenzionalmente usati per la stimolazione della corteccia esposta durante neurochirurgia, inducendo risposte motorie negli arti controlaterali. Tuttavia, con quel tipo di stimolazione, la maggior parte della corrente scorreva attraverso lo scalpo e solo una frazione di questa arrivava al tessuto cerebrale; ne derivava una stimolazione pressoché inefficace ed estremamente dolorosa.

La prima metodica di stimolazione elettrica transcranica (TES) clinicamente applicabile dovette attendere Merton e Morton (1980). Essi usarono una singola scarica di alto voltaggio, piuttosto che un treno di impulsi più piccoli; questa determinava la penetrazione della corrente nella struttura cerebrale con una dispersione attraverso lo scalpo relativamente piccola. Con tale dispositivo essi dimostrarono che la stimolazione della corteccia motoria produceva contrazione dei muscoli dell' emisoma controlaterale, e che la stimolazione della corteccia visiva produceva fosfeni. Più tardi Cohen ed Hallet

(1988) riproducevano l' *homunculus* motorio di Penfield con la TES. Anche con questo tipo di stimolatore comunque il dolore era abbastanza elevato da impedirne la diffusione nella pratica clinica. Ciò nonostante la TES resta una metodica di notevole importanza teorica e continua ad essere usata in situazioni in cui l' informazione clinica e scientifica non è ottenibile con la stimolazione magnetica.

Lo stimolatore elettromagnetico usato nella pratica clinica per la stimolazione magnetica transcranica (TMS) fu sviluppato da Barker et al. nel 1985. Questa metodica permetteva per la prima volta di studiare la funzione della corteccia motoria umana in modo non invasivo e quasi completamente non doloroso, cambiando radicalmente lo stato della ricerca neurofisiologica sulla corteccia cerebrale, specialmente quella motoria, che era stata praticamente confinata agli studi su animali fino all' arrivo della TMS.

Basi fisiologiche.

Con la stimolazione magnetica transcranica (TMS) è possibile indurre un flusso di corrente elettrica nel cervello. È questa corrente indotta, non il campo magnetico, che attiva il tessuto nervoso.

Operativamente, viene sfruttata una corrente elettrica di elevata intensità (fino a 5000 A) e breve durata (1 ms circa), che un condensatore scarica in una bobina circolare piatta di fili di rame contenuta nello stimolatore (coil), creando così un ampio campo magnetico perpendicolare al coil, che può avere un picco di diversi Tesla. Questo campo magnetico attraversa lo scalpo ed il cranio con scarsa o nulla impedenza e penetra nel cervello (fig. 6). Il campo magnetico cambia repentinamente nel tempo, oscillando tra lo zero ed il picco in un millisecondo, e genera così un flusso di corrente elettrica che si propaga in ogni tessuto conduttore vicino.

Il circuito è tale per cui si ottiene un sistema risonante con uno scambio continuo di energia tra condensatore e coil (stimolatore magnetico polifasico). Un inconveniente in

questo tipo di stimolatore è la tendenza al riscaldamento del coil, che ne pregiudica un uso a frequenze elevate e/o prolungato. Per ovviare a ciò sono stati creati stimolatori magnetici (monofasici) in cui i flussi di corrente indesiderati (successivi al primo, che genera il campo magnetico), vengono dissipati prima di poter ritornare al condensatore. La direzione del flusso di corrente nel coil (che genera un flusso di corrente in direzione opposta nel tessuto nervoso sottostante) condiziona l'efficacia della stimolazione della corteccia motoria, la quale viene attivata preferenzialmente da un flusso di corrente che la attraversa in direzione postero-anteriore (fig. 6). Se si usa un coil monofasico, con un flusso di corrente in senso orario si stimolerà più efficacemente l'emisfero di destra e viceversa. Con lo stimolatore bifasico invece è possibile stimolare indifferentemente i due emisferi cerebrali e in generale, a parità di intensità di stimolazione, lo stimolo bifasico è più efficace di quello monofasico nell'attivare i neuroni corticali (Kammer et al. 2001).

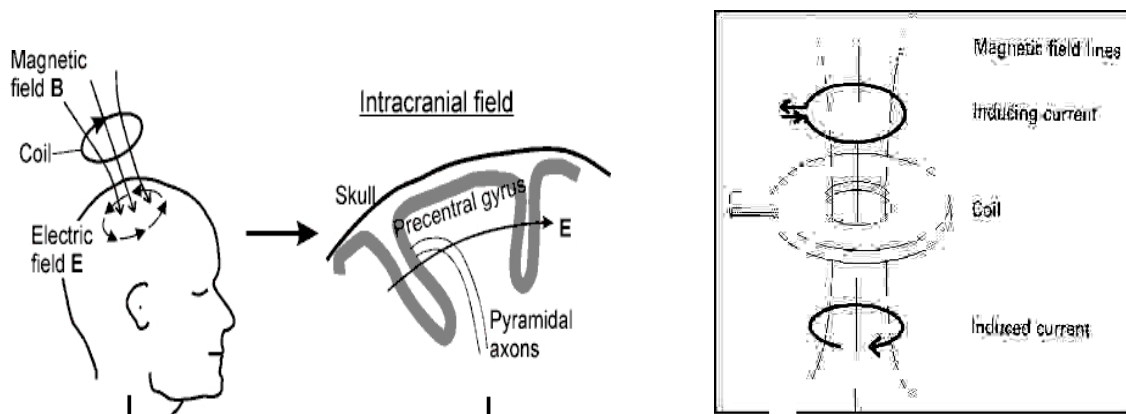


Figura 6.

Un altro aspetto fisico da ricordare è che il massimo campo elettrico si genera ad una distanza (profondità) che si identifica con il raggio del coil (circolare), per cui il dimensionamento di questo è cruciale per una stimolazione cerebrale efficace; in genere il diametro medio della bobina varia da 8 a 12 cm, rendendo così agevole in particolare la stimolazione delle strutture più superficiali (corteccia).

Infine la morfologia del coil può essere modificata per ottenere un campo elettrico di maggiore intensità (a parità di corrente di stimolazione che arriva alla bobina) e focalizzazione. Ciò si ottiene in particolare con i coil a “farfalla” o a “8”, specie se piatti (fig. 7).

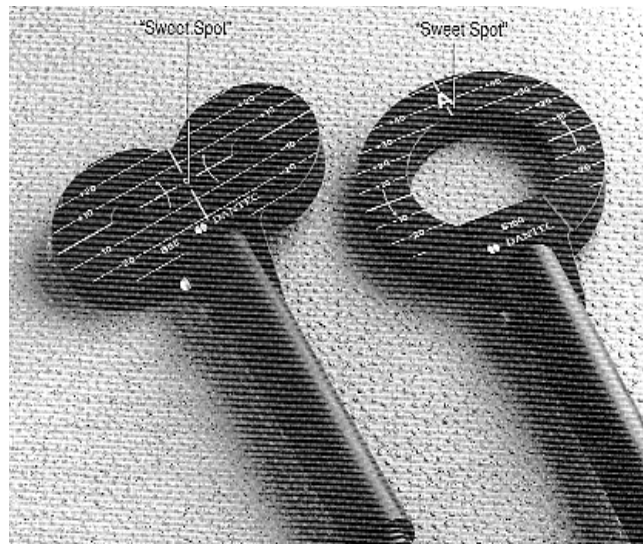


Figura 7.

Per comprendere in che modo la TMS attivi il cervello, è necessario rivedere alcune nozioni sulla stimolazione elettrica convenzionale. Gli studi effettuati su gatti e scimmie, in cui veniva utilizzata la stimolazione elettrica a singolo impulso della corteccia motoria esposta, per esaminare i suoi effetti sui neuroni piramidali (Patton e Amassian 1954) dimostrarono che l’attivazione di questi neuroni avveniva a livello delle porzioni prossimali dell’assone e non a livello del corpo cellulare. L’attivazione di un certo numero di tali neuroni dava origine ad una scarica o “volley” discendente nel

tratto piramidale che era possibile registrare dalla superficie del tronco encefalico o del midollo spinale e che viene chiamata onda diretta o onda D. Quando si incrementava l'intensità della stimolazione, l'impulso elettrico iniziava a reclutare l'attività in altre strutture che potevano eccitare i neuroni piramidali per via transinaptica, dando origine così ad onde indirette o onde I nel tratto piramidale (fig. 8). Quali fossero le strutture stimolate a tali intensità non era chiaro, ma potevano essere coinvolti gli interneuroni corticali o le fibre afferenti da strutture sottocorticali o corticali.

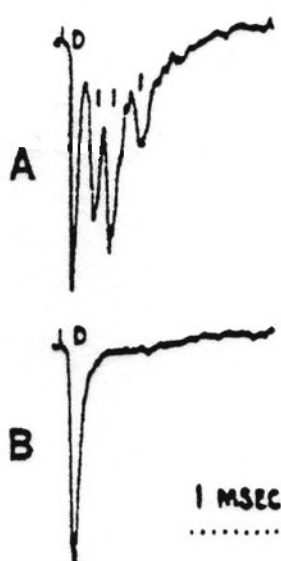


Figura 8. A: onda diretta (D) ed indirette periodiche (I) registrate nella scimmia dalla superficie della piramide bulbare dopo singolo impulso elettrico su corteccia esposta.
 B: risposta dopo stimolazione della sostanza bianca esposta per ablazione della corteccia motoria nella scimmia: si noti l'assenza delle onde I. Da Patton e Amassian, 1960.

Per ragioni sconosciute, ogni impulso elettrico evoca una serie di onde I (numerata in base al loro ordine di comparsa) che compaiono con un intervallo regolare di circa 1,5 ms. Queste onde I sono il risultato della scarica simultanea regolare di popolazioni di neuroni piramidali a frequenze molto alte. Non è ancora chiaro se le onde I siano prodotte da input sinaptici periodici che arrivano ai neuroni piramidali, o se esse rappresentino una proprietà intrinseca della membrana neuronale in risposta ad un intenso input eccitatorio sincrono (Porter et al. 1993).

La TES nell'uomo sembra agire in modo del tutto analogo a quello, appena descritto, della stimolazione elettrica diretta della corteccia esposta nelle scimmie (Day et al. 1989), come evidenziano le registrazioni effettuate durante interventi chirurgici sul

midollo spinale o con gli elettrodi epidurali impiantati per la neurostimolazione cronica per la terapia del dolore (Boyd et al. 1986, Burke et al. 1998, Di Lazzaro et al. 1998a).

Due fattori distinguono la TMS della corteccia motoria dalla TES. Primo, c'è una direzione preferenziale per il reclutamento dell'attivazione discendente (di solito la stimolazione magnetica più efficace è quella che induce una corrente elettrica nel cervello che attraversa il solco centrale in direzione postero-anteriore) (Day et al. 1989, Marsden et al. 1983). Secondo, la TMS tende ad evocare onde I ad un'intensità inferiore a quella a cui evoca onde D (Di Lazzaro et al. 1998a). Quest'ultima caratteristica si spiega con la fisica della stimolazione magnetica, che induce un flusso di corrente elettrica sempre tangenziale alla superficie cerebrale, senza alcuna componente radiale (Thompson et al. 1987). I neuroni piramidali (PN) sono allineati perpendicolarmente alla superficie cerebrale, e vengono perciò attivati meglio da una corrente radiale, mentre gli interneuroni corticali, orientati orizzontalmente, sarebbero attivati meglio da una corrente tangenziale. Così, ad intensità soglia o appena sopra soglia, la stimolazione elettrica tende a reclutare direttamente i PN, mentre la TMS tende a reclutarli indirettamente, attraverso un'attivazione sinaptica da parte degli interneuroni orizzontali. Questa potrebbe essere una spiegazione semplicistica delle differenze tra TES e TMS, poiché non tiene conto del notevole ripiegamento della corteccia nell'area motoria.

La sensibilità delle risposte evocate dalla TMS all'orientamento del coil sullo scalpo, è una proprietà piuttosto inattesa. La soglia di attivazione più bassa per l'area motoria della mano si ha con la direzione postero-anteriore (PA) del flusso di corrente, che tende a reclutare per prima l'onda I 1 (Di Lazzaro et al. 2001a). Se la direzione della corrente nel coil viene invertita così da indurre un flusso di corrente in senso antero-posteriore (AP), la soglia per evocare una risposta è più alta e c'è una tendenza a reclutare l'onda I 3 prima di altre volley discendenti. Una conseguenza di ciò è che la latenza del

potenziale evocato motorio (MEP) con una stimolazione AP sarà maggiore che con una stimolazione PA. Infine, se il coil è orientato in modo da indurre un flusso di corrente in direzione medio-laterale, in molti soggetti sarà possibile registrare un' onda D alla soglia più bassa, seguita da onde I solo con l' aumento dell' intensità. I MEP ottenuti con questo orientamento del coil avranno la latenza minore di tutti (Werhahn et al. 1994). È importante ricordare che orientamenti diversi del coil e diverse intensità di stimolazione possono reclutare proporzioni diverse di onde D e onde I. Dal momento che le onde D sono il risultato dell' attivazione dell' assone dei PN, esse non saranno influenzate significativamente dai cambiamenti del livello di eccitabilità all' interno della sostanza grigia della corteccia cerebrale (Di Lazzaro et al. 1999). La situazione è completamente diversa per quanto riguarda le onde I, che, poiché sono indotte per via sinaptica, sono altamente sensibili al livello di eccitabilità corticale presente al momento della stimolazione. Perciò, se la TMS viene usata per valutare l' eccitabilità della corteccia motoria, bisognerebbe adottare quegli accorgimenti che determinano la maggior proporzione possibile di onde I.

Il fatto che la direzione del flusso di corrente indotta determini il modo in cui i PN vengono attivati, indica che diversi elementi nervosi nel cervello hanno diversi orientamenti spaziali rispetto alla superficie. Si può ipotizzare pertanto che gli elementi che generano l' onda I₁ siano orientati in direzione postero-anteriore, mentre quelli responsabili dell' onda I₃ siano disposti in direzione opposta. Potrebbe anche essere quindi che gli assoni piramidali stessi siano attivati preferenzialmente da una corrente indotta medio-laterale perché sono inclinati in questa direzione per penetrare nella sostanza bianca e nella capsula interna (Amassian et al. 1992). Resta da dimostrare se vi sia lo stesso tipo di selettività di orientamento per la stimolazione di altre aree cerebrali. Infine, è ancora oggetto di discussione il preciso meccanismo di azione della TMS dell' area di rappresentazione degli arti inferiori della corteccia motoria (Di Lazzaro et al.

2001b, Mills et al. 1992). In questo caso, i PN sono localizzati, nella maggior parte dei soggetti, all' interno della scissura interemisferica ed hanno un orientamento rispetto alla superficie diverso da quello dei rispettivi PN nell' area della mano. Alcuni autori ritengono che questo aumenti le probabilità di attivazione diretta da parte della TMS.

Il fatto che la TMS evochi una serie complessa di scariche ripetitive nel tratto piramidale di popolazioni neuronali, ha diverse implicazioni sulle risposte elettromiografiche evocate. Queste differiscono per due importanti motivi dal potenziale d' azione muscolare composto convenzionale (CMAP), prodotto dalla stimolazione del nervo periferico. In primo luogo, i MEP sono sempre di minore ampiezza, di maggior durata, e più polifasici rispetto al CMAP. Secondo, la latenza di comparsa del MEP cambia in base al fatto che il soggetto sia a riposo o attivato (Day et al. 1987, Rothwell 1997).

Le scariche corticospinali discendenti prodotte dalla TMS, determinano potenziali post-sinaptici eccitatori (EPSP) nel motoneurone, e questi si sviluppano per un periodo di diversi millisecondi in base al numero di onde I che sono state evocate. Perciò, i motoneuroni spinali scaricano in modo asincrono determinando MEP di maggior durata, specialmente ad alte intensità di stimolazione. Inoltre, si può verificare cancellazione di fase tra unità motorie che scaricano con latenze leggermente diverse.

La differenza di latenza tra MEP evocati in muscoli rilassati ed attivi è dovuta al tempo necessario agli EPSP per depolarizzare il motoneurone fino alla sua soglia di scarica. A riposo, un singolo EPSP (per esempio quello prodotto dall' arrivo di un' onda D) può essere insufficiente a portare il motoneurone alla soglia, e quindi la scarica di questo potrà avvenire solo dopo l' arrivo, 1,5 ms più tardi, dell' onda I 1. Se invece lo stesso stimolo viene erogato durante contrazione muscolare volontaria, ci saranno sempre alcuni motoneuroni spinali sufficientemente vicini alla soglia, per cui per la scarica di questi potrà essere sufficiente l' arrivo del primo EPSP al pool motoneuronale. Perciò, i

MEP evocati nei muscoli attivamente contratti hanno sempre la minor latenza possibile, mentre quelli evocati nei soggetti a riposo solitamente hanno latenze più lunghe. Inoltre, i MEP evocati durante contrazione volontaria sono sempre più ampi di quelli a riposo. Ciò è dovuto prevalentemente all' aumento di eccitabilità dei motoneuroni spinali. Tuttavia, ci sono alcune evidenze circa l' aumentata responsività anche dei PN alla TMS durante contrazione volontaria (Di Lazzaro et al. 1999). Questo può nuovamente essere spiegato dalla maggiore eccitabilità dei PN, durante contrazione volontaria rispetto allo stato di riposo, con conseguente maggiore rapidità di scarica da parte di questi all' arrivo degli input provenienti dai generatori delle onde I. Tutte le onde I inoltre sono facilitate se lo stimolo è erogato durante contrazione volontaria e durante ICF ("intracortical facilitation") ad ISI di 1,2 ms. D' altra parte, l' onda I 1 (e in minor misura la I 2) non è influenzata da alcun paradigma che testi l' inibizione corticale (inibizione intracorticale a breve e lungo intervallo, inibizione transcallosale, inibizione afferente a breve latenza). Si può quindi ipotizzare che il meccanismo generatore dell' onda I 1 sia differente da quello delle altre onde: l' inibizione valutata con i suddetti paradigmi potrebbe riguardare solo i neuroni coinvolti nella genesi di I 2 e I 3, oppure solo una specifica porzione del PN che riceve I 2 e le onde I successive, mentre I 1 arriverebbe ad una sede elettricamente remota (Di Lazzaro et al. 2004).

Valutazione dell' eccitabilità corticale.

La TMS della corteccia motoria evoca risposte elettromiografiche nei muscoli controlaterali, dette MEP (Motor Evoked Potentials), che si presentano con una breve latenza, compatibile con la velocità di conduzione degli assoni corticospinali più veloci. Sia le onde D sia le onde I discendenti nel tratto corticospinale contribuiscono alla genesi della risposta EMG. La contrazione muscolare volontaria facilita i MEP aumentandone l' ampiezza e riducendone la latenza di diversi millisecondi. La registrazione dell' attività elettromiografica indotta dalla TMS viene usata

comunemente per la valutazione dell' eccitabilità corticale motoria. Tuttavia, bisogna operare una chiara distinzione tra indici di eccitabilità globale del sistema corticospinale e quelli che riflettono più specificamente l' eccitabilità della corteccia motoria.

Eccitabilità del Sistema Corticospinale.

L' analisi dei MEP da singolo stimolo magnetico transcranico può essere utilizzata per una valutazione complessiva dell' eccitabilità del sistema corticospinale. È implicito che uno stimolo erogato sullo scalpo può evocare un MEP solo se il motoneurone spinale scarica in risposta a tale stimolo. Ne consegue che vari parametri di TMS, come la soglia e l' ampiezza del MEP, le curve stimolo-risposta, le mappe corticali motorie, riflettono l' eccitabilità di entrambi i motoneuroni, corticale e spinale. Tuttavia tali parametri possono fornire indirettamente informazioni sull' eccitabilità della corteccia motoria. Innanzitutto, qualsiasi modificazione del livello di eccitabilità corticale, influenzerà le risposte evocate dalla TMS più di quelle evocate dalla TES. Inoltre, è verosimile che la modulazione del MEP dipenda da modificazioni dell' eccitabilità corticale se l' eccitabilità spinale non è modificata, come si può dimostrare valutando simultaneamente la modulazione del riflesso H e delle onde F.

La soglia motoria. La minima intensità di TMS (espressa come percentuale dell' output massimo dello stimolatore) che evoca un MEP riproducibile (ampiezza > 50 μ V) nel muscolo target completamente rilassato, nel 50 % di 10-20 trial successivi (Rossini et al. 1994), rappresenta la soglia motoria a riposo (rest motor threshold - rMTh) di quel muscolo. La MTh riflette l' eccitabilità dei neuroni corticospinali più eccitabili. Nell' arto superiore, i MEP derivati dai muscoli intrinseci della mano, dai flessori dell' avambraccio e dagli estensori, hanno i più bassi valori di rMTh. Nell' arto inferiore, i valori più bassi di rMTh si trovano nei muscoli tibiale anteriore ed estensore breve delle dita. Tali differenze sono state spiegate con la diversa densità delle relative proiezioni corticospinali (Brouwer ed Ashby 1990). La variabilità interindividuale della

MTh è alta, e questo riduce la sua applicabilità in studi di confronto di gruppo. Tuttavia, le differenze interemisferiche della MTh di muscoli omologhi di destra e di sinistra, mostrano solo minime variazioni tra individui sani, proponendosi come strumento efficace per l'individuazione di disfunzioni monoemisferiche dell'eccitabilità corticospinale (Cicinelli et al. 1997). L'asimmetria interemisferica della MTh viene facilmente determinata usando un coil focale con posizione lateralizzata ed è utile in clinica per rilevare lesioni monoemisferiche. Tuttavia, bisogna sottolineare che una lesione delle connessioni callosali può alterare l'equilibrio tra input eccitatori ed inibitori, determinando una differente eccitabilità delle due cortecce motorie (Abbruzzese e Trompetto, dati non pubblicati). Recenti studi neurofarmacologici indicano che la MTh non è influenzata da farmaci che modulano l'attività GABAergica o glutammatergica a livello sinaptico intracorticale, mentre viene aumentata da farmaci (carbamazepina, fenitoina) che bloccano i canali ionici (Na^+) voltaggio-dipendenti di membrana (Ziemann et al. 1996a). Queste osservazioni suggeriscono che la MTh rifletta il livello di eccitabilità della membrana neuronale o assonale, che dipende principalmente dalla conduttanza dei canali ionici (Ziemann et al. 1998b). Tuttavia, la MTh dipende anche dall'eccitabilità del motoneurone spinale.

Il valore della MTh "attiva" (active motor threshold - aMTh), vale a dire la MTh ottenuta durante contrazione volontaria del muscolo target, è inferiore (di circa il 25 %) a quello della rMTh corrispondente (Hess et al. 1987). Questo decremento è il risultato di meccanismi spinali e corticali. La modulazione farmacologica mostra un comportamento sostanzialmente simile per la aMTh e la rMTh (Ziemann et al. 1995, 1996a, b).

L'ampiezza del MEP. Viene solitamente espressa come percentuale dell'ampiezza massima dell'onda M registrata dallo stesso muscolo con la stimolazione elettrica sopramassimale del corrispondente nervo periferico, fornendo così una misura

della proporzione di motoneuroni spinali attivati dalla TMS. L' ampiezza del MEP (output) aumenta con l' aumento dell' intensità dello stimolo (input), con un andamento sigmoidale, non lineare. I muscoli intrinseci della mano hanno la curva input-output più ripida e le maggiori ampiezze percentuali del MEP. Questo ancora si spiega con la più alta densità ed il maggior numero di fibre corticospinali, e con il più intenso drive eccitatorio discendente sugli α -motoneuroni spinali dei muscoli intrinseci della mano rispetto ad altri muscoli (de Noordhout et al. 1999). L' ampiezza del MEP è influenzata dalla posizione del coil rispetto all' *hot spot*, che è il sito dello scalpo ottimale per evocare, con la minore intensità di stimolazione, un MEP di ampiezza massima nel muscolo target. Il parametro ampiezza del MEP presenta due importanti limiti. Primo, è soggetto ad una notevole variabilità intertrial per cause sconosciute (Hess et al. 1986). Questa può essere minimizzata usando alte intensità di stimolazione e livelli di contrazione muscolare controllati. Secondo, anche con la massima intensità di stimolazione e con una forte contrazione volontaria, l' ampiezza percentuale del MEP è solitamente ben inferiore al 100% (50-60 % nei muscoli della mano, con notevole variabilità interindividuale). Questo è dovuto principalmente a fenomeni di cancellazione di fase dei potenziali d' azione muscolari, causati a loro volta da un' attivazione asincrona degli α -motoneuroni spinali. Questo fenomeno può essere superato con la tecnica, di recente introduzione, della tripla stimolazione che elimina la desincronizzazione del MEP per mezzo di due collisioni lungo il nervo periferico (TMS - stimolo elettrico sopramassimale distale del nervo periferico - stimolo elettrico sopramassimale del plesso brachiale al punto di Erb) (Magistris et al. 1998).

L' ampiezza del MEP di per sé non permette di distinguere tra cambiamenti di eccitabilità di origine corticale o spinale, ma la sua modulazione durante contrazione volontaria, immaginazione del movimento, e stimolazione periferica afferente, può essere utilizzata per la valutazione dell' eccitabilità corticale.

La contrazione volontaria del muscolo target (e in minor misura dei muscoli limitrofi o del muscolo omologo controlaterale) incrementa l' ampiezza del MEP (fig. 9 B) e ne riduce la soglia (Hess et al. 1987). Teoricamente possono essere coinvolti, in questa facilitazione, meccanismi sia spinali sia corticali. Il "drive" volontario può innalzare il potenziale di membrana dei motoneuroni spinali, rendendoli più propensi a scaricare in risposta alle volley discendenti generate dalla TMS. Lo stesso incremento di eccitabilità può tuttavia riguardare gli stessi motoneuroni corticali, portando così alla scarica di un maggior numero di cellule corticospinali. Un contributo spinale alla facilitazione del MEP durante attivazione volontaria è stato documentato dall' incremento di ampiezza delle onde F durante la contrazione muscolare, in parallelo con le modificazioni del MEP (Buchman et al. 1988). Stedman et al. (1998), confrontando le risposte motorie evocate dalla TMS con quelle evocate dalla stimolazione elettrica diretta del midollo cervicale a vari gradi di contrazione muscolare, hanno dimostrato che, con una contrazione volontaria di bassa intensità, la facilitazione avverrebbe a livello corticale motorio, mentre meccanismi spinali interverrebbero alle più forti contrazioni. Questo conferma precedenti osservazioni secondo le quali la marcata facilitazione del MEP da TMS durante contrazione di entità molto bassa, non può essere prodotta con la stimolazione elettrica (Hess et al. 1987). Pertanto, sembra che più basso è il livello di contrazione, meno probabile è che meccanismi spinali siano coinvolti nella modulazione del MEP, portando ad una facilitazione "corticale pura" ai più bassi livelli di contrazione.

Questo spiega, inoltre, perché l' immaginazione del movimento venga usata per valutare i meccanismi corticali della facilitazione del MEP. Infatti, "immaginare" un compito motorio può essere considerato il livello di contrazione più basso possibile - così debole che non determina alcuna attività registrabile nel background elettromiografico. L' ampiezza del MEP dei muscoli opponente del pollice e flessore superficiale delle dita

aumenta significativamente durante immaginazione di movimenti sequenziali delle dita (fig. 9 C), mentre il riflesso H non mostra alcuna modificazione (Abbruzzese et al. 1996), suggerendo così un incremento di eccitabilità corticale motoria. Il riscontro di una evidente facilitazione del MEP indotto dalla TMS durante immaginazione del movimento, è stato confermato da diversi gruppi di ricercatori (Kasai et al. 1997, Kiers et al. 1997, Ridding e Rothwell 1999, Rossi et al. 1998, Tremblay et al. 2001). La facilitazione del MEP durante immaginazione del movimento è stata recentemente proposta come metodica per valutare i possibili cambiamenti dell' eccitabilità della corteccia motoria nei pazienti parkinsoniani o con malattia cerebrovascolare (Cincotta et al. 1999, Filippi et al. 2001).

Un' altra strategia possibile per valutare le modificazioni dell' eccitabilità corticale motoria durante contrazione volontaria, consiste nel confronto delle ampiezze dei MEP evocati durante diversi compiti motori. È stato dimostrato che, se l' intensità della contrazione volontaria, valutata con l' attività EMG di background, è la stessa in differenti compiti motori, la modulazione dell' ampiezza del MEP che si osserva, dipende verosimilmente da modificazioni dell' eccitabilità dei neuroni corticospinali (Datta et al. 1989, Flament et al. 1993). Ciò accade sia nei muscoli intrinseci della mano, sia in quelli prossimali del braccio (Schieppati et al. 1996), se si confrontano diversi compiti di precisione o di potenza, a condizione che i livelli di attività EMG di background pre-stimolo siano identici o che le risposte H ed F vengano usate come condizione di controllo.

Di Lazzaro e coll. (1999) hanno documentato direttamente gli effetti della contrazione volontaria sull' eccitabilità corticale, dimostrando l' aumento del numero e dell' ampiezza delle onde I durante contrazione volontaria.

La stimolazione periferica afferente può modulare l' ampiezza del MEP agendo ad entrambi i livelli, corticale e spinale. Quando si condizionano i MEP da TMS nei

muscoli dell' eminenza tenar con uno stimolo elettrico soprasoglia del nervo mediano al polso, si possono osservare due distinti periodi di facilitazione. Il primo si verifica a brevi intervalli (0-10 ms) tra stimolo condizionante (periferico) e stimolo test (TMS). Questa facilitazione, coincidente con i tempi del riflesso H, si spiega con la sommazione spaziale, a livello dei motoneuroni α , degli input afferenti Ia, generati dallo stimolo periferico, con quelli corticospinali discendenti evocati dallo stimolo magnetico (Deuschl et al. 1991). Un periodo di facilitazione simile si può ottenere con lo stiramento e con la vibrazione muscolare (Claus et al. 1988a,b). Ad intervalli stimolo condizionante-test più lunghi (25-60 ms), si osserva un secondo periodo di facilitazione, coincidente con i tempi dei riflessi a lunga latenza ("long loop reflexes"). Dal momento che i riflessi H risultano simultaneamente inibiti (Rossini et al. 1991), questo secondo periodo di facilitazione rappresenta verosimilmente il risultato della sommazione spaziale, a livello della corteccia motoria, tra l' output corticale e l' input sensitivo generato dallo stimolo elettrico periferico (fig. 9 D). Questo fenomeno rappresenta pertanto un' evidenza oggettiva dell' integrazione sensori-motoria (Deuschl et al. 1991). La natura corticale di questa facilitazione appare chiara se si considerano gli intervalli condizionamento-test nei muscoli della mano e degli arti inferiori rispettivamente. Infatti, la comparsa del secondo picco di facilitazione si verifica approssimativamente a 25 ms nei muscoli della mano e dell' avambraccio, mentre in quelli dell' arto inferiore, dopo stimolo elettrico del nervo tibiale alla caviglia, a circa 40 ms. Questa differenza dipenderebbe dai diversi tempi di conduzione necessari alle volley periferiche afferenti generate nell' arto superiore ed inferiore, per raggiungere la corteccia motoria (Deletis et al. 1992).

Questa facilitazione tardiva del MEP, conseguente ad un incremento di eccitabilità della corteccia motoria, è ridotta in pazienti con malattia di Parkinson, indicando che la bradicinesia, propria di questa malattia, potrebbe essere il risultato di un anormale

processamento dell' input sensoriale utilizzato per la programmazione e l' esecuzione dei movimenti (Rossini et al. 1991). La facilitazione tardiva del MEP, inoltre, scompare nei pazienti con lesioni talamiche o pontine, a conferma che tale fenomeno è il risultato di meccanismi soprasedgmentali (Hirashima e Yokota, 1997).

La stimolazione del nervo mediano o dei nervi digitali determina inoltre un' inibizione a breve latenza del MEP da TMS, che inizia a 19 ms raggiungendo il massimo a 21 ms dalla stimolazione periferica. Questa fase è interposta tra i due periodi di facilitazione, spinale e corticale, descritti. La registrazione delle volley corticospinali in pazienti con elettrodi cervicali epidurali impiantati ha permesso di dimostrare in modo diretto che tale fenomeno è il risultato di una riduzione dell' eccitabilità della corteccia motoria (Tokimura et al. 2000). L' inibizione afferente precoce è ridotta dopo somministrazione sperimentale di farmaci antimuscarinici (scopolamina) e nei pazienti con malattia di Alzheimer, in cui viene incrementata dalla somministrazione di rivastigmina. Tale paradigma rappresenta quindi un valido strumento per la valutazione dell' attività colinergica centrale, tipicamente ridotta in questa malattia, in cui potrebbe peraltro assumere un ruolo nell' indicazione alla terapia con anticolinesterasici centrali (Di Lazzaro et al. 2000, 2002).

La riduzione di ampiezza del MEP nei muscoli della mano e dell' avambraccio dopo stimolazione elettrica del nervo mediano o digitale, è stata documentata anche ad intervalli condizionamento-test compresi tra 200 e 1000 ms. Tale inibizione si verifica verosimilmente a livello corticale poiché lo stimolo periferico sostanzialmente non modifica l' ampiezza delle onde F. Questa inibizione corticale potrebbe corrispondere all' aumento del ritmo rolandico a 20 Hz che si registra dopo stimolo del nervo mediano e che si suppone rappresenti uno stato di inattività della corteccia (Chen et al. 1999a). Usando un paradigma analogo, Abbruzzese e coll. hanno recentemente dimostrato che, in pazienti con distonia focale della mano, i MEP registrati dai muscoli intrinseci della

mano non sono soppressi dallo stimolo condizionante, mentre si osserva una opposta tendenza alla facilitazione. Al contrario, pazienti con distonia cervicale di torsione presentano una normale inibizione. Queste osservazioni suggeriscono che il processamento centrale dell' input sensoriale è alterato nella distonia e può contribuire ad incrementare l' eccitabilità corticale motoria (Abuzzese et al. 2001).

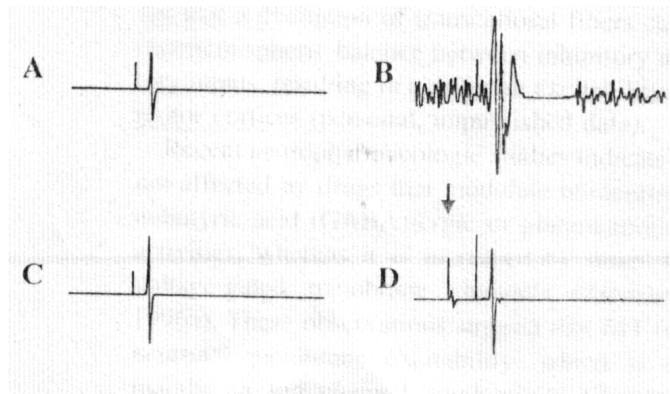


Figura 9. Modificazioni dell' ampiezza del MEP del muscolo opponente del pollice in diverse condizioni sperimentali che modificano l' eccitabilità corticospinale
A. a riposo, **B.** contrazione volontaria (20 % massimale), **C.** a riposo, durante immaginazione del movimento ripetitivo di opposizione del pollice, **D.** a riposo, TMS 40 ms dopo stimolo elettrico del nervo mediano al polso. Da Abuzzese e Trompetto 2002.

Eccitabilità della corteccia motoria.

Il periodo silente (SP). È l' interruzione parziale o totale dell' attività EMG tonica volontaria nel muscolo target controlaterale alla corteccia motoria stimolata (Cantello et al. 1992, Wilson et al. 1993). L' inizio del SP è dato dall' artefatto dello stimolo magnetico oppure dall' inizio del MEP. Il momento in cui si ha il recupero dell' attività EMG volontaria sostenuta rappresenta la fine del SP. Il SP ha una durata variabile nei diversi muscoli, in relazione approssimativamente lineare con l' intensità dello stimolo (fig. 10). Ad alte intensità di stimolazione esso può durare anche più di 250 ms nei muscoli intrinseci della mano. L' intensità dello stimolo dovrebbe essere idealmente riferita alla soglia del SP e non alla MTh, perché la prima è spesso più bassa

e può essere influenzata in modo differente da diverse malattie. La maggior parte dei ricercatori usa intensità pari al 130-150 % della soglia del SP. La durata del SP mostra una elevata variabilità interindividuale, mentre la variabilità intraindividuale e le differenze di lato tra muscoli omologhi sono basse.

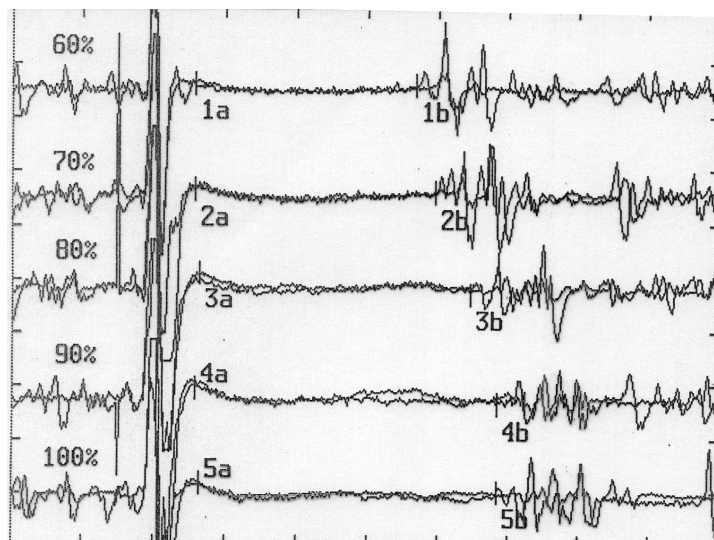


Figura 10. Influenza dell' intensità dello stimolo magnetico sulla durata del SP.

Durante la fase iniziale del SP (i primi 30-50 ms) è presente anche una profonda inibizione del riflesso H, e questo dimostra che questa parte più precoce del SP è prodotta da meccanismi spinali. Tuttavia, poiché l' ampiezza del riflesso H recupera completamente prima della fine della pausa EMG, si suppone che la parte tardiva del SP abbia un' origine sopraspinale (Cantello et al. 1992, Fuhr et al. 1991, Ziemann et al. 1993). Il ruolo della corteccia motoria nella genesi del SP è confermato inoltre dall' osservazione che la sua durata è maggiore dopo TMS che dopo TES (fig. 11) (Inghilleri et al. 1993). Più recentemente, Chen e coll. (1999b) hanno dimostrato direttamente, mediante registrazioni epidurali delle volley discendenti, che la porzione di SP successiva ai primi 50 ms è correlata ad una riduzione dell' eccitabilità della corteccia motoria. A basse intensità di stimolazione è possibile produrre un SP anche in assenza

di un precedente potenziale eccitatorio; ciò suggerisce che il SP e il MEP siano verosimilmente due fenomeni separati (Davey et al. 1994; Wassermann et al. 1993). Questa ipotesi trova supporto nell' evidenza di una modulazione differenziata del SP e del MEP con l' attivazione di circuiti inibitori intracorticali (Trompetto et al. 2001b).

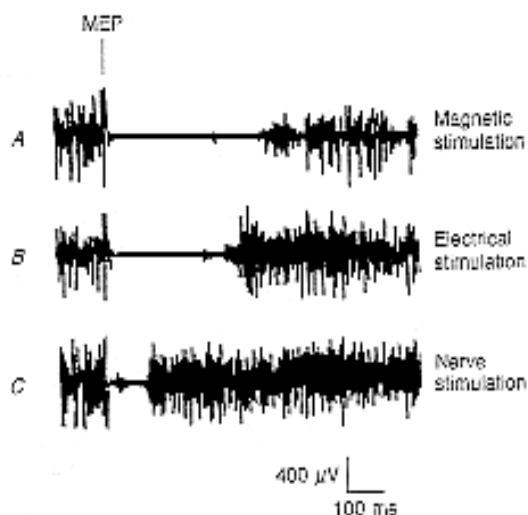


Figura 11. Influenza della modalità di stimolazione sulla durata del SP.

La TMS focale di un emisfero, inoltre, può sopprimere l' attività EMG volontaria anche nei muscoli della mano ipsilaterale, generando così un "SP ipsilaterale" (Ferber et al. 1992, Wassermann et al. 1991). Questo periodo di inibizione dell' attività EMG inizia approssimativamente 14 ms dopo il tempo minimo di conduzione corticospinale al muscolo della mano da cui si registra, ed è assente nei pazienti con agenesia del corpo calloso (Rothwell et al. 1991). Si è pertanto ipotizzato che il SP ipsilaterale sia mediato dalle fibre callosali provenienti dalla corteccia motoria stimolata, che esercitano un' influenza inibitoria sulla corteccia motoria controlaterale (Borojerdi et al. 1996, Meyer et al. 1998).

I possibili meccanismi corticali responsabili del SP sono l' inibizione dei motoneuroni corticali e la perdita del drive corticale eccitatorio sui motoneuroni spinali. L' evidenza sperimentale che supporta la prima ipotesi si basa sui risultati ottenuti con la tecnica del doppio stimolo magnetico, che mostrano un' inibizione del MEP test dopo la

somministrazione di uno stimolo condizionante soprasoglia ad intervalli interstimolo (ISI) compresi tra 50 e 150 ms (Inghilleri et al. 1993, Roick et al. 1993, Triggs et al. 1993, Valls-Solé et al. 1992, Wassermann et al. 1996). Poiché il periodo refrattario dei neuroni corticali dura solo pochi millisecondi (Amassian et al. 1987), la spiegazione più probabile per questa inibizione prolungata (di durata corrispondente a quella della fase corticale del SP), sembra essere l'attivazione di neuroni intracorticali che proiettano ai neuroni piramidali (Inghilleri et al. 1993). Il ruolo della soppressione del drive corticale motorio nella genesi del SP è stato dimostrato con esperimenti sofisticati in cui si utilizzava la MTh come misura dell'eccitabilità del sistema corticospinale. La base teorica di questa metodica consiste nel fatto che la MTh è più bassa durante contrazione volontaria del muscolo target che a riposo, e ciò suggerisce che la differenza tra aMTh e rMTh possa riflettere "l'entità del drive motorio volontario lungo la via cortico-muscolare". Dopo la somministrazione di uno stimolo magnetico soprasoglia, la aMTh e la rMTh (valutate con un secondo stimolo magnetico) diventano simili per un periodo corrispondente alla durata del silenzio EMG, indicando così che la soppressione del drive motorio volontario ha un ruolo cruciale nella genesi del SP (Tergau et al. 1999).

Indipendentemente dal meccanismo implicato (inibizione delle cellule corticospinali o soppressione del drive motorio volontario o entrambi), un ruolo importante nella genesi del SP lo avrebbe l'attivazione dei recettori GABA-B come dimostrato dal significativo allungamento del SP dopo somministrazione sperimentale dei rispettivi agonisti (es. Baclofen) (Ziemann et al. 1995, 1996b).

Sia l'ampiezza del MEP sia la durata del SP aumentano all'aumentare dell'intensità dello stimolo (Wilson et al. 1993). Tuttavia, mentre l'ampiezza del MEP satura agli alti livelli di stimolazione, la durata del SP continua a crescere (Inghilleri et al. 1993). La maggior parte degli autori non ha riscontrato alcun effetto del livello dell'attività EMG di background pre-stimolo sulla durata del SP (Inghilleri et al. 1993, Roick et al. 1993,

Triggs et al. 1993) (fig. 12). Tuttavia, alcuni autori hanno riscontrato una riduzione della durata del SP con l' aumento del livello di attività EMG di background, ma solo usando basse intensità di TMS (Mathis et al. 1998, Wilson et al. 1993). Ciò indica che le alte intensità di stimolazione riducano l' influenza esercitata dal livello di attività EMG di background sulla durata del SP (Mathis et al. 1998).

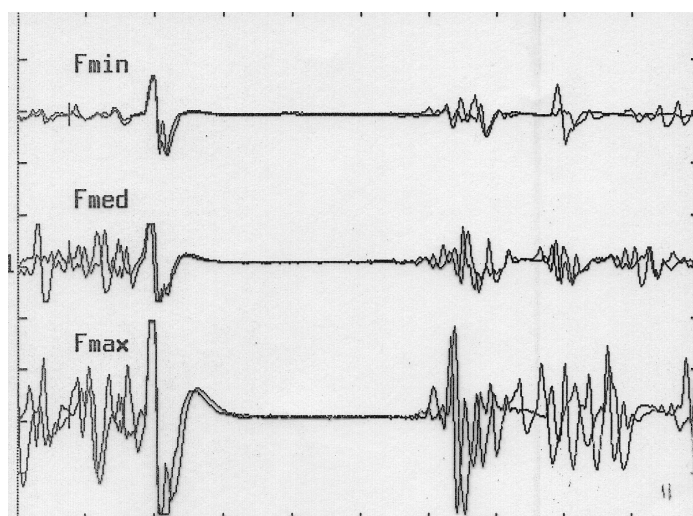


Figura 12. Influenza dell' entità della contrazione pre-stimolo sulla durata del SP.

In definitiva, a condizione che si utilizzi un protocollo adeguato, la durata del SP può essere considerata un indicatore dell' eccitabilità corticale motoria. In particolare, un allungamento del SP è stato trovato in pazienti con lesioni localizzate in aree proiettanti alla corteccia motoria primaria, mentre il SP risultava di durata ridotta se la lesione coinvolgeva direttamente la corteccia motoria primaria. Queste evidenze sembrano indicare che il SP sia generato prevalentemente nella corteccia motoria primaria (von Giesen et al. 1994).

La valutazione del SP è uno strumento molto sensibile per dimostrare anomalie dell' attività dei circuiti inibitori intracorticali in pazienti con disfunzioni dei gangli della base. Pazienti affetti da malattia di Parkinson hanno un SP più breve (Cantello et al.

1991, Priori et al. 1994a), mentre pazienti con malattia di Huntington hanno un SP più lungo (Priori et al. 1994b) dei soggetti sani di controllo. Nei pazienti parkinsoniani, così come nei soggetti sani, inoltre, i farmaci dopaminergici aumentano la durata del SP, mentre i dopaminoantagonisti centrali hanno l'effetto opposto (Priori et al. 1994a). Si ritiene che questi effetti riflettano l'influenza che l'output dei gangli della base esercita, attraverso il talamo ventro-laterale, sull'eccitabilità degli interneuroni inibitori della corteccia motoria.

TMS con doppio stimolo.

L'eccitabilità corticale può essere valutata con un paradigma che prevede un doppio stimolo magnetico: condizionante-test. L'effetto modulatorio del primo stimolo (condizionante) sulla risposta motoria evocata dal secondo stimolo (test), dipende dall'intensità di entrambi gli stimoli, dall'intervallo tra essi (ISI) e dalla presenza o assenza di contrazione muscolare volontaria. Sono stati proposti e vengono utilizzati diversi paradigmi nella valutazione dell'eccitabilità corticale nei soggetti sani e nei pazienti con varie malattie neurologiche.

Inibizione e facilitazione intracorticale. Uno stimolo condizionante somministrato sulla corteccia motoria ad intensità inferiore alla rMTh, che pertanto non evoca di per sé alcun MEP, sopprime la risposta nel muscolo FDI ad uno stimolo test (soprasoglia), se viene somministrato da 1 a 6 ms prima (inibizione intracorticale a breve intervallo - Short interval IntraCortical Inhibition - SICI). Al contrario, se i due stimoli sono separati da un intervallo di 6-20 ms, la risposta allo stimolo test è facilitata (facilitazione intracorticale – IntraCortical Facilitation - ICF) (Kujirai et al. 1993). Questa facilitazione si osserva solo se il muscolo target è completamente rilassato. Durante la contrazione la facilitazione si converte in una lieve inibizione, almeno agli ISI da 6 a 15 ms (Ridding et al. 1995b).

L'uso di stimoli condizionanti sottosoglia consente di evitare l'attivazione del motoneurone spinale prima dell'arrivo del secondo stimolo (test), evitando così il fattore di confondimento della scarica motoneuronale e degli input sensitivi afferenti dovuti alla contrazione muscolare.

L'inibizione intracorticale non è stata osservata invece usando uno stimolo test elettrico anziché magnetico, suggerendo così l'origine corticale di questi fenomeni modulatori. Questa ipotesi è stata poi corroborata dalle registrazioni epidurali in cui si osservava una facilitazione delle volley discendenti da parte di uno stimolo condizionante somministrato con ISI di 20 ms, mentre uno stimolo condizionante sottosoglia ad ISI di 2-5 ms sopprimeva le volley discendenti (Di Lazzaro et al. 1998b, Kaneko et al. 1996, Nakamura et al. 1997).

Kujirai e coll. (1993), usando uno stimolo magnetico focale, hanno anche valutato l'effetto del cambiamento della posizione dello scalpo su cui veniva applicato lo stimolo condizionante, mantenendo fissa quella dello stimolo test sull'area motoria della mano. Se il coil condizionante veniva spostato anteriormente o posteriormente rispetto alla localizzazione della corteccia motoria, la soppressione delle risposte allo stimolo test si riduceva. I circuiti esaminati sembrano essere infatti piuttosto localizzati, dal momento che la stimolazione diretta della corteccia esposta attraverso elettrodi subdurali è in grado di produrre un'inibizione intracorticale tra elettrodi adiacenti separati di 1 cm, ma non a distanze maggiori (Ashby et al. 1999). In altre parole, la TMS è in grado di attivare neuroni inibitori intracorticali entro la corteccia motoria.

Uno stimolo condizionante sottosoglia applicato sull'area dell'arto inferiore, inibisce le risposte evocate dallo stimolo test sull'area della mano, indicando una similitudine tra i sistemi inibitori umani e quelli descritti negli animali (Krjnevic et al. 1966).

Queste evidenze, insieme a quelle descritte prima, hanno portato ad ipotizzare che gli effetti inibitori siano il risultato dell'attività di interneuroni GABAergici nella corteccia

motoria. A supporto di ciò vengono anche i risultati degli studi farmacologici. Dopo somministrazione di lorazepam, un agonista recettoriale GABA-A, si osserva un rinforzo dell'attività GABA a livello della corteccia motoria e l'aumento dell'inibizione (Ziemann et al. 1996b). Il blocco dei trasportatori per l'uptake del GABA modula l'inibizione in preparati di corteccia di animali da esperimento (Thompson e Gähwiler 1992). Werhahn e coll. (1999) hanno esaminato gli effetti del blocco dell'uptake del GABA nell'uomo, usando la TMS due ore dopo la somministrazione di 5-15 mg di tiagabina. Essi hanno osservato un allungamento del SP e, nello stesso tempo, una riduzione dell'inibizione della risposta test da parte di uno stimolo condizionante sottosoglia con ISI di 3 ms, mentre la facilitazione osservata con lo stesso paradigma, con ISI di 10 ms, era aumentata. I ricercatori hanno interpretato l'incremento della durata del SP come il risultato del prolungamento della componente mediata dai recettori GABA-B del potenziale post-sinaptico inibitorio (IPSP), osservato negli studi con tiagabina *in vitro*. La riduzione dell'inibizione con doppio stimolo a 3 ms, a sua volta riflette probabilmente l'inibizione presinaptica GABA-B mediata dell'inibizione mediata dai recettori GABA-A. Hanajima e coll. (1998) hanno dimostrato che la soppressione delle volley discendenti tardive (onde I), ad opera dello stimolo condizionante, può durare più di 20 ms, ed hanno collegato questa osservazione a quella di McCormick (1992) il quale aveva evidenziato che la componente del IPSP indotta dai recettori GABA-A, dura decine di millisecondi.

La facilitazione viene inoltre ridotta dalla somministrazione di antagonisti NMDA del Glutammato (Liepert et al. 1997, Ziemann et al. 1998a).

Le modificazioni del flusso ematico cerebrale (CBF) indotte dalla TMS con doppio stimolo della corteccia motoria primaria (M1), sono diverse a seconda che l'ISI sia di 3 o 12 ms, selezionati come gli ISI più rappresentativi rispettivamente dell'inibizione e della facilitazione del MEP test (Strafella e Paus 2001). È stata osservata una relazione

positiva tra il CBF regionale e l' entità della inibizione nella M1 di sinistra, nella corteccia premotoria laterale di sinistra e nella M1 di destra, nel caso della TMS con doppio stimolo con ISI di 3 ms. Al contrario, c' era una significativa correlazione tra il CBF regionale e l' entità della facilitazione nella M1 di sinistra, nel caso della TMS con doppio stimolo con ISI di 12 ms. Questi modelli di risposta del CBF alla TMS con doppio stimolo suggeriscono che l' inibizione e la facilitazione delle risposte test siano verosimilmente mediate da due diverse popolazioni di interneuroni corticali. Questa ipotesi trova peraltro supporto in osservazioni precedenti che evidenziavano un' influenza della direzione della corrente condizionante indotta nel cervello solo sulla facilitazione e non sull' inibizione (Ziemann et al. 1996c). Lorenzano e coll. (2002) inoltre, hanno provato che treni condizionanti di stimoli magnetici soprasoglia e ad alta frequenza (5-20 Hz) sulla corteccia motoria, riducono l' inibizione (ISI 3 ms), lasciando invariata la facilitazione (ISI 13 ms).

Münchau (2002) ha dimostrato che la rTMS a bassa frequenza (1 Hz), applicata per 20 minuti sulla corteccia premotoria, può alterare il profilo temporale dell' inibizione intracorticale per 1 ora dopo la fine della stimolazione. Ciò è compatibile con l' ipotesi che la connessione premotoria-motoria moduli la funzione degli interneuroni corticali.

Dal punto di vista teleologico, l' attività inibitoria intracorticale consente di ottimizzare la selettività e la precisione di un movimento. Essa previene la diffusione dell' attivazione a motoneuroni non coinvolti in uno specifico compito o azione (Brown et al. 1996, Liepert et al. 1998). Inoltre, consente una fine modulazione del numero di motoneuroni corticali reclutati dal comando volontario, e quindi la regolazione precisa dell' estrinsecazione della forza. In quest' ottica assume grande rilievo l' osservazione di una ridotta inibizione intracorticale nella distonia (Ridding et al. 1995a) e nel mioclono corticale (Brown et al. 1996). Questa ipotesi trova anche supporto nell' osservazione che, in soggetti sani, l' inibizione è più potente nei muscoli della mano che

nei muscoli prossimali dell' arto superiore (fig. 13) (Abbruzzese et al. 1999). I muscoli intrinseci della mano sono coinvolti prevalentemente in compiti motori soggetti a controllo fine, che spesso richiedono sia una modulazione rapida della forza prodotta, sia la contrazione selettiva di singoli muscoli. Questo implica la necessità di un potente controllo inibitorio corticale. Al contrario, i muscoli prossimali sono più frequentemente coinvolti, solitamente in coattivazione sinergica con altri muscoli, in compiti motori tonici posturali, per i quali la modulazione della forza non necessita verosimilmente di grande accuratezza e rapidità (Abbruzzese et al. 1999).

L' inibizione intracorticale potrebbe essere inoltre implicata nella riorganizzazione post-lesionale della corteccia motoria, come suggerito dalla riduzione dell' entità dell' inibizione osservata nei muscoli del moncone in pazienti con amputazione unilaterale (Chen et al. 1998), che correla con l' estensione dell' area della loro rappresentazione corticale (Fuhr et al. 1992).

Sebbene infine sia stato postulato il possibile ruolo di questi circuiti modulatori intracorticali, non è ancora del tutto chiaro in che modo essi vengano fisiologicamente reclutati, anche se dati recenti sembrano sottolineare l' importanza degli input afferenti (Ridding e Rothwell 1999, Trompetto et al. 2001a).

Inibizione a lunghi ISI (long interval intracortical inhibition - LICI). Se si usa una stimolazione condizionante soprasoglia con ISI compresi tra 100 e 250 ms, si può evidenziare, allo stimolo test, un periodo di profonda inibizione, approssimativamente corrispondente in lunghezza al SP corticale. Dopo tale periodo, si verifica di solito un recupero parziale del MEP, talvolta seguito da una fase di facilitazione (Berardelli et al. 1996, Inghilleri et al. 1993, Rona et al. 1998). Questa inibizione di lunga durata è verosimilmente il risultato di meccanismi soprasspinali a neurotrasmissione GABAergica (GABA-B), i cui effetti hanno una durata anche superiore a 200 ms (Berardelli et al. 1996, McCormick et al. 1992).

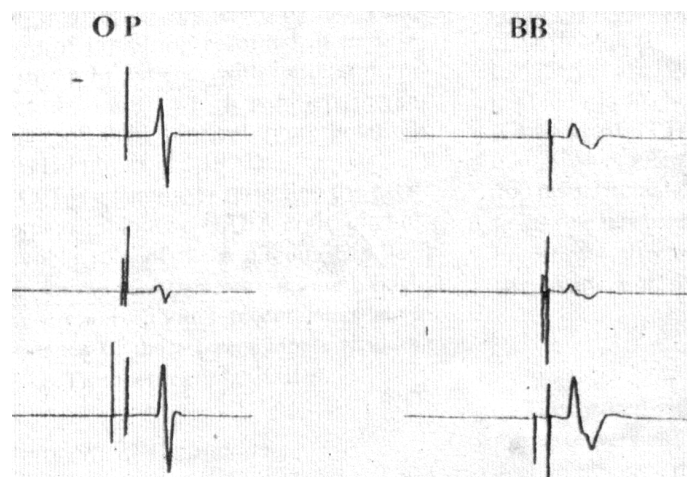


Figura 13. Traccia superiore: MEP test dei muscoli opponente del pollice (sinistra) e bicipite brachiale (destra). Traccia intermedia: ICI (doppio stimolo con ISI di 3 ms). Traccia inferiore: ICF (doppio stimolo con ISI di 10 ms). Si noti la maggior inibizione e la minor facilitazione in OP rispetto a BB. Da Abbruzzese e Trompetto 2002.

La LICI è risultata aumentata nei pazienti con malattia di Parkinson e distonia (Berardelli et al. 1996, Rona et al. 1998).

Interazione (facilitazione) tra onde I. Questo paradigma sembra l' inverso di quello usato per la valutazione della SICI, dal momento che prevede un primo stimolo soprasoglia ed un secondo stimolo sottosoglia. Ad ISI di 1,1-1,5 ms, 2,3-2,9 ms e 4,1-4,4 ms il MEP prodotto dal primo stimolo è più ampio di quello prodotto dallo stesso stimolo somministrato da solo. Diverse evidenze suggeriscono che questa facilitazione derivi dall' interazione, a livello corticale, tra le onde I evocate dai due stimoli (Ziemann et al. 1998c). Risultati simili si possono ottenere usando due stimoli quasi a soglia, agli stessi ISI (Tokimura et al. 1996).

Inibizione interemisferica (IEI). Quando si applica lo stimolo condizionante alla corteccia motoria di un lato e quello test alla corteccia motoria controlaterale, si osserva una inibizione del MEP test ad ISI compresi tra 6 e 50 ms (Ferber et al. 1992, Chen et al. 2003). Una serie di dati sperimentali suggerisce che tale inibizione abbia origine intracorticale, anche se un contributo da siti sottocorticali può coesistere (Gerloff et al. 1998). L' IEI ad ISI di 10 ms sembra essere indipendente dal SP

ipsilaterale, mentre ad ISI intorno ai 40 ms potrebbe essere correlata a questo (Chen et al. 2003). L' IEI è stata trovata ridotta in pazienti schizofrenici (Daskalakis et al. 2002).

Inibizione cerebello-corticale. La stimolazione del cervelletto con un coil a doppio polo inibisce il MEP prodotto dalla TMS della corteccia motoria controlaterale ad ISI di 5-7 ms (Ugawa et al. 1995, Werhahn et al. 1996). L' inibizione cerebello-corticale non è documentabile in pazienti con degenerazione della corteccia cerebellare o lesioni della via cerebello-talamo-corticale, mentre è preservata in pazienti con lesioni delle vie afferenti al cervelletto (Ugawa et al. 1997). Si suppone che la stimolazione cerebellare attivi le cellule di Purkinje della corteccia cerebellare, determinando l' inibizione dei nuclei cerebellari profondi, che hanno una connessione disinaptica eccitatoria con la corteccia motoria attraverso il talamo ventrale. Questi dati, insieme a quelli derivanti dagli studi di eccitabilità corticale in pazienti con patologie cerebellari degenerative, sottolineano l' importanza del ruolo modulatore del cervelletto sull' eccitabilità della corteccia motoria.

STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA RIPETITIVA (rTMS): meccanismi fisiologici

A causa dei tempi di ricarica del condensatore, la frequenza di stimolazione degli stimolatori magnetici convenzionali non poteva superare i 0,2-0,3 Hz. Dal 1989 sono divenuti disponibili stimolatori dotati di condensatori multipli, e coil con dispositivi di raffreddamento, in grado di scaricare a frequenze fino a 100 Hz.

La tecnica di stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS), consente di stimolare specifiche aree di corteccia cerebrale con treni di stimoli della stessa intensità, ad una determinata frequenza e per una durata variabile (dipendente dal numero di stimoli stabilito e dalla frequenza di stimolazione). Gli studi sperimentali a tale riguardo si sono concentrati prevalentemente sugli effetti di tale metodica di stimolazione sulle aree motorie. I parametri di stimolazione suddetti, e in particolare la frequenza, determinano la qualità degli effetti, eccitatori o inibitori, che si possono osservare durante o anche dopo il treno di stimoli e che possono essere valutati, nel caso delle aree motorie, misurando l'ampiezza e la soglia dei potenziali evocati motori (MEP), la durata del periodo silente corticale (SP), e l'inibizione e la facilitazione intracorticali.

Effetti durante il treno di rTMS.

Più alte sono l'intensità e la frequenza di stimolazione, maggiore è il grado di disorganizzazione funzionale indotta nella corteccia. Tuttavia, dopo questo effetto immediato osservato nel corso di un treno di rTMS, lo stesso treno di stimoli ripetitivi induce anche una modulazione dell'eccitabilità corticale. Pascual Leone e coll. osservarono per primi, nel 1994 (a), che treni di stimoli magnetici transcranici erogati a frequenza di 5 Hz e con intensità pari al 120 % della soglia motoria a riposo (rMTh), sull'area motoria della mano in soggetti sani a riposo, evocavano MEP che crescevano progressivamente di ampiezza. Se i parametri di stimolazione venivano modificati, i

MEP mostravano un comportamento più complesso; ad esempio, stimoli a frequenza da 10 a 20 Hz, con intensità pari al 110 % di rMTh, evocavano un pattern alternante caratterizzato da risposte di grande ampiezza seguite da risposte più piccole. Gli autori attribuirono questi effetti a cambiamenti indotti nella eccitabilità corticale e spinale. Pascual Leone e coll. inoltre osservarono che un singolo stimolo inizialmente sotto-soglia, somministrato dopo un treno di stimoli, evocava un MEP. Perciò, gli effetti della rTMS sulla corteccia motoria persistevano anche dopo la fine del treno.

In uno studio sui possibili meccanismi della facilitazione del MEP indotta da brevi treni di stimoli a frequenza di 5 Hz ed intensità pari al 120 % rMTh, Berardelli e coll. (1998) hanno valutato l'effetto di un tale treno condizionante su un singolo stimolo, magnetico o elettrico, transcranico. Dopo la fine del treno, che facilitava progressivamente il MEP (fig. 14), la risposta al singolo stimolo magnetico rimaneva incrementata a 600 e 900 ms, mentre questo non avveniva con lo stimolo elettrico. Inoltre, i treni condizionanti inibivano il riflesso H nei muscoli dell'avambraccio per circa 900 ms. Queste osservazioni implicavano che la facilitazione del MEP avvenisse a livello corticale. La rTMS potrebbe facilitare l'attività dei neuroni piramidali agendo direttamente a livello del corpo cellulare o facilitando l'attivazione di onde I da parte dello stimolo magnetico, e quindi determinando un incremento di ampiezza della volley corticospinale prodotta dallo stimolo magnetico transcranico dopo il treno. I meccanismi responsabili della facilitazione del MEP sono simili a quelli descritti per il potenziamento post-tetanic negli animali (Sastry et al. 1986).

Gli effetti della rTMS sulla eccitabilità della corteccia motoria sono stati indagati da Di Lazzaro e coll. (2002) in due pazienti con elettrodi impiantati nello spazio epidurale cervicale. La rTMS, somministrata con parametri simili a quelli usati da Berardelli e coll. (1998), determinava un rapido incremento dell'ampiezza dell'onda D, seguito da un incremento più lento del numero e dell'ampiezza delle onde I. Entrambi gli effetti

perduravano per 2 minuti dopo la fine del treno (fig. 15). Questi risultati confermano che gli effetti osservati da Pascual Leone e coll. (1994a) e da Berardelli e coll. (1998) sull' ampiezza del MEP, sono dovuti a modificazioni dell' eccitabilità della corteccia motoria.

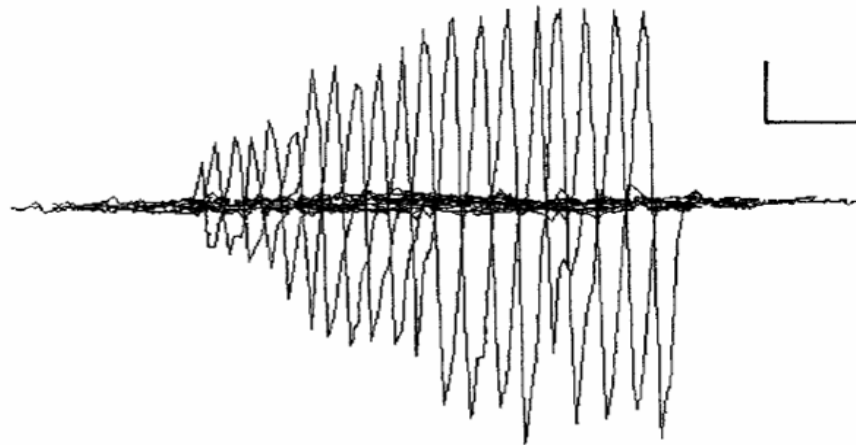


Figura 14. Comportamento dei MEP registrati dal muscolo ADM durante un treno di rTMS a 5 Hz. Calibrazione orizzontale 100 ms, verticale 0,5 mV. Da Berardelli e coll. 1998.

Durante il treno, la rTMS evoca la comparsa di MEP anche in muscoli diversi da quello target. I primi a descrivere tale diffusione dell' attivazione furono Pascual Leone e coll. (1994a) che osservarono che treni di stimoli a varie intensità (110-120 % rMTh) e frequenze (1, 4, 5, 10, 20 e 25 Hz) erogati sulla posizione dello scalpo ottimale per l' attivazione del muscolo abditore breve del pollice controlaterale, evocavano MEP anche nei muscoli vicini (non-target). Essi attribuirono questo fenomeno a modificazioni delle afferenze propriocettive dovute alle contrazioni muscolari ripetitive durante il treno. In uno studio successivo, Lorenzano e coll. (2002) hanno indagato i meccanismi alla base di tale diffusione di attivazione.

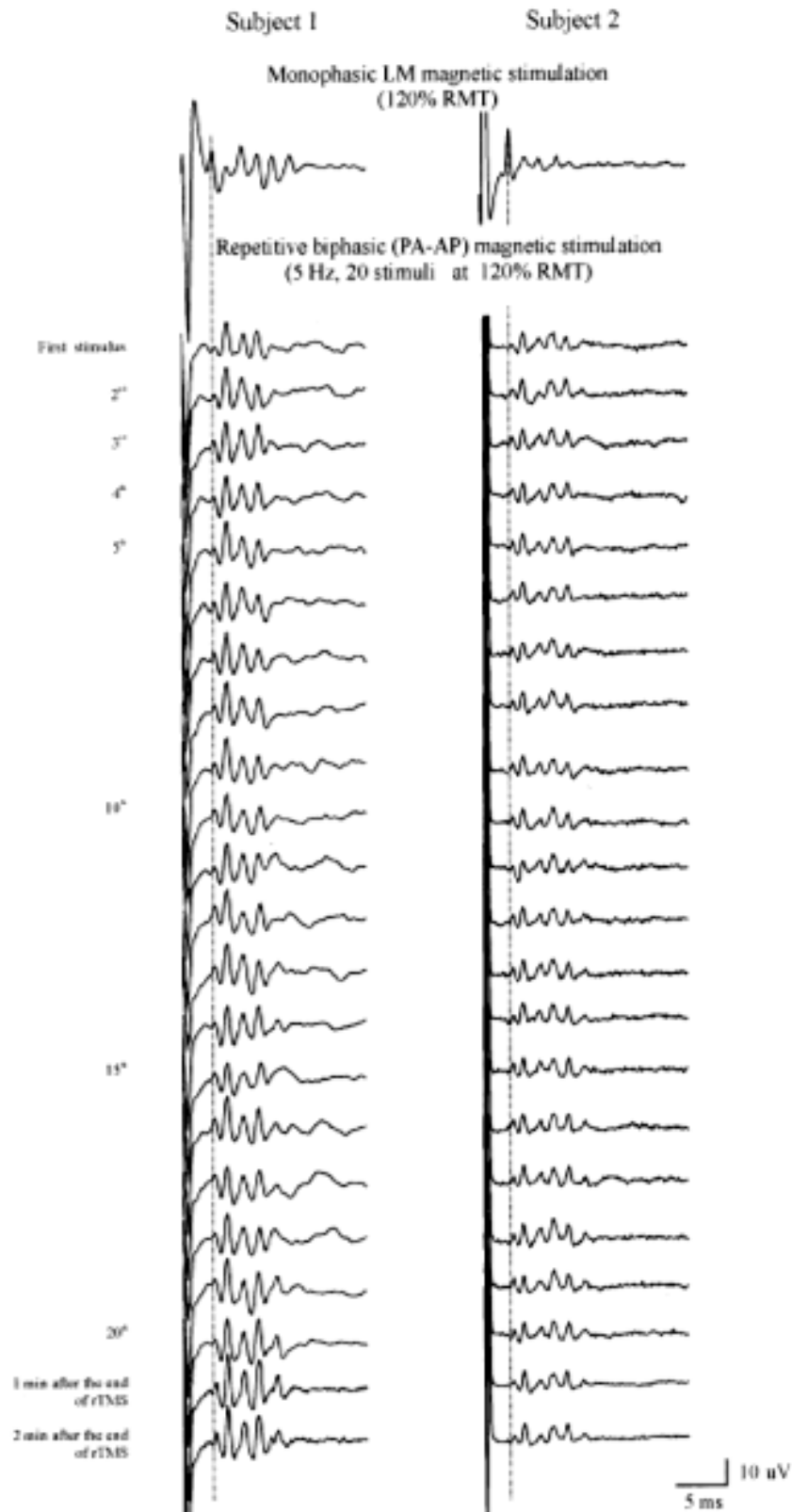


Figura 15. 20 stimoli a 5 Hz, 120 % rMTh. Registrazione epidurale cervicale. L' ampiezza dell'onda D aumenta fino al 6° stimolo nel soggetto 1 e fino al 4° nel soggetto 2, rimanendo successivamente stabile. Dopo l' 11°-13° stimolo compare un' onda I tardiva in entrambi i soggetti, I 4 nel soggetto 1 e I 5 nel soggetto 2, la cui ampiezza aumenta con gli stimoli successivi. Sia l' onda D sia le onde I sono ancora facilitate 1 e 2 min dopo la fine del treno. Da Di Lazzaro e coll. 2002.

Essi hanno esaminato soggetti sani e studiato gli effetti di treni di breve durata erogati in corrispondenza dell' area motoria della mano con un' intensità appena superiore alla rMTh ed a frequenze di 5, 10 e 20 Hz. Dopo il secondo o terzo stimolo del treno, la rTMS focale evocava MEP in muscoli non-target (fig. 16). Per dimostrare l' origine corticale della diffusione, Lorenzano e coll. hanno effettuato esperimenti di condizionamento. In uno di questi, veniva esaminata l' inibizione transcallosale: la rTMS facilitava l' ampiezza del MEP evocato da un singolo stimolo magnetico erogato sull' emisfero controlaterale. Gli esaminatori inoltre hanno valutato gli effetti della rTMS condizionante sulle risposte al doppio stimolo magnetico somministrato con intervalli interstimolo di 3 e 13 ms. Il treno condizionante riduceva l' inibizione intracorticale (ISI 3 ms) lasciando invece invariata la facilitazione intracorticale (ISI 13 ms). Questa modificazione selettiva suggerisce che la diffusione dei MEP ai muscoli non-target sia associata alla riduzione dell' attività inibitoria degli interneuroni intracorticali. In conclusione, la diffusione dell' attività, prodotta dalla rTMS, potrebbe dipendere da meccanismi corticali che implicano modificazioni dell' eccitabilità degli interneuroni responsabili dei fenomeni inibitori nelle aree corticali motorie.

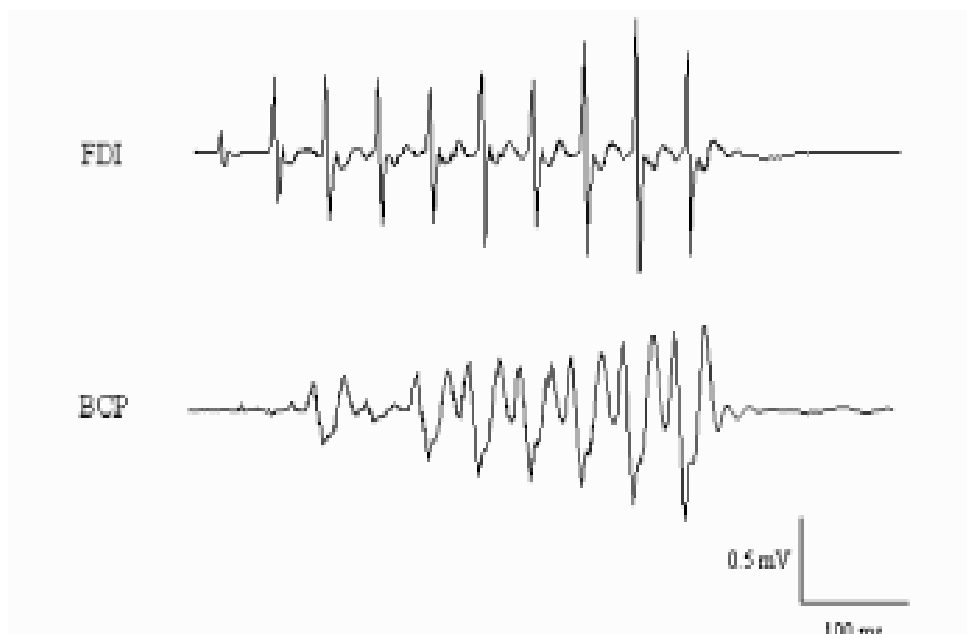


Figura 16. Effetto della rTMS a 20 Hz sull' ampiezza dei MEP evocati durante il treno nei muscoli primo interosseo dorsale e bicipite controlaterali. Oltre all' aumento di ampiezza nel FDI si nota la comparsa di MEP nel bicipite (muscolo non-target) dopo il 3° stimolo del treno. Da Lorenzano e coll. 2002.

Effetti della rTMS sulla durata del periodo silente.

Berardelli e coll. (1999) hanno studiato inoltre gli effetti di treni a frequenza di 5 e 3 Hz ed intensità soprasoglia (110 e 120 % rMTh) sulla durata del periodo silente (SP). In soggetti sani, la rTMS somministrata durante contrazione volontaria dei muscoli target (flessori dell' avambraccio) prolungava la durata del SP senza modificare l' ampiezza dei MEP. Tale effetto sul SP era più evidente con treni a 3 Hz e 120 % rMTh, e diveniva significativo dal quarto stimolo del treno (fig.17). La rTMS non modificava invece il SP evocato da un singolo stimolo magnetico somministrato 600 ms dopo la fine del treno condizionante. Da questo studio emergeva pertanto che la rTMS facilita il SP ma solo durante il treno di stimoli. In un altro studio, Romeo e coll. (2000) hanno esaminato gli effetti della rTMS somministrata a frequenze di 1, 2, 3, 5, 10 e 15 Hz ed intensità soprasoglia. I treni con frequenza da 2 a 15 Hz, al contrario di quelli con frequenza di 1 Hz, aumentavano la durata del SP (fig. 18). Il SP cominciava ad allungarsi dopo i primi stimoli per poi rimanere sostanzialmente stabile con gli stimoli successivi del treno. Romeo e coll. (2000) hanno poi valutato l' effetto di intensità di stimolazione diverse: la durata dei SP evocati con due diverse intensità aumentava in misura simile durante il treno.

L' allungamento del SP corticale prodotto dalla rTMS può essere spiegato da due meccanismi: 1) un' inibizione più efficiente generata (durante la rTMS) dagli stessi interneuroni inibitori intracorticali per fenomeni di sommazione temporale; 2) il reclutamento, da parte della rTMS, di un maggior numero di interneuroni inibitori corticali. La registrazione simultanea del SP nei muscoli dell' avambraccio e nel bicipite durante rTMS a 5 e 10 Hz, dimostrava un aumento di durata del SP nei primi, mentre non si evocavano SP nel secondo. Queste evidenze suggeriscono che la rTMS determini l' aumento della durata del SP corticale producendo un' inibizione più efficiente per fenomeni locali di sommazione temporale dell' attività degli interneuroni inibitori.

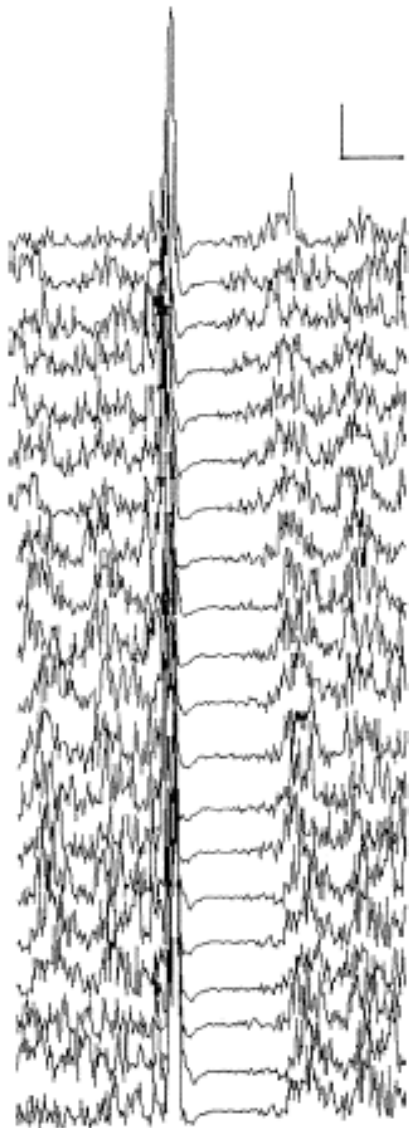


Figura 17. SP corticale registrato dai muscoli flessori dell' avambraccio durante rTMS a 3Hz. Calibrazione orizzontale 100 ms, verticale 0,5 mV. Da Berardelli e coll. 1999.

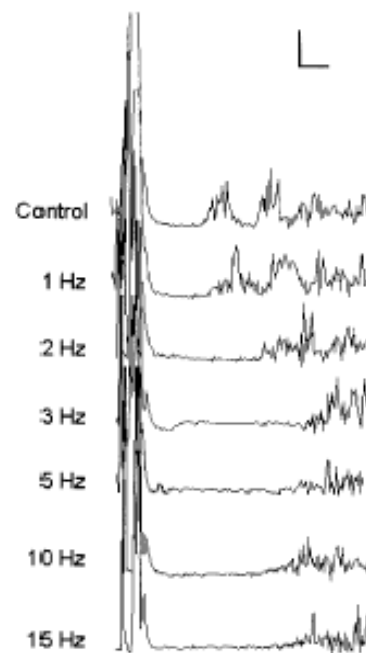


Figura 18. Durata del SP di controllo e dell' ultimo SP dopo 20 stimoli ad intensità soprasoglia alle frequenze indicate. Calibrazione orizzontale 40 ms, verticale 0,5 mV. Da Romeo e coll. 2000.

Effetti evidenti dopo la fine del treno di rTMS (*after-effects*).

La rTMS induce effetti a breve ed a lungo termine sull' eccitabilità corticale (MTh, MEP, SP, ICI, ICF). Si intendono effetti a breve termine quelli evidenziabili subito dopo la fine del treno, a lungo termine quelli presenti anche dopo diversi minuti dalla fine del treno. Pascual Leone e coll. (1994a) hanno dimostrato che 10 stimoli, erogati con frequenza di 20 Hz ed intensità del 150 % rMTh, aumentavano l' ampiezza della risposta ad uno stimolo test di minor intensità, somministrato 3-4 minuti dopo.

Risultati simili sono stati ottenuti da Berardelli e coll. (1998) con stimoli soprasoglia a 5 Hz. L' aumento di facilitazione del MEP persisteva a 600-900 ms. In un altro studio, Modugno e coll. (2001) hanno utilizzato brevi treni di stimoli (4-20) sulla corteccia motoria a 5, 10 o 20 Hz e ad intensità soprasoglia, confermando che la facilitazione del MEP persisteva dopo 1 secondo dalla fine del treno ed era più evidente con le alte frequenze di stimolazione. Usando un' intensità per la rTMS pari a quella della rMTh invece, essi hanno evidenziato una riduzione di ampiezza del MEP che persisteva dopo circa 1 secondo. Tale riduzione persisteva più a lungo (fino a 2 secondi) quando venivano usate le frequenze più alte (10 e 20 Hz) o treni più lunghi. Questi risultati sono compatibili con un modello in cui l' inibizione e la facilitazione si costituiscono gradualmente durante il treno condizionante ed operano come due meccanismi indipendenti con comportamenti diversi in base alla frequenza, intensità e numero di stimoli della rTMS. In particolare, l' inibizione raggiunge il suo massimo effetto già dopo pochi stimoli, mentre la facilitazione impiega di più. La soglia per evocare l' inibizione è più bassa di quella per la facilitazione. Così, se si usano intensità modeste per i treni condizionanti, l' inibizione è prevalente dopo treni brevi, mentre la facilitazione predomina dopo treni più lunghi.

Chen e coll. (1997) per primi hanno descritto gli effetti a lungo termine determinati da lunghi treni di impulsi a bassa frequenza (0,9 Hz) e ad intensità pari al 115 % della rMTh, applicati sulla corteccia motoria, caratterizzati da riduzione di ampiezza del MEP persistente fino a 15 minuti dopo la fine del treno. Con intensità e frequenze simili, anche Muellbacher e coll. (2000) hanno riscontrato un' inibizione del MEP e, in aggiunta, un aumento della MTh.

Studi successivi confermavano che treni di stimoli a bassa frequenza (1 Hz), ma ad intensità sottosoglia (90 % rMTh), inibivano il MEP per circa 15 minuti dopo la fine del treno (Maeda et al. 2000a, Romero et al. 2002, Touge et al. 2001) (fig. 19). Tutti gli

autori suggerivano che l' inibizione del MEP derivasse da meccanismi corticali piuttosto che spinali. In questi esperimenti l' intensità degli stimoli condizionanti era inferiore a quella della rMTh, per cui la rTMS condizionante a bassa intensità non causava alcuna contrazione muscolare ed alcuna modificazione degli input afferenti. Questa osservazione rendeva estremamente improbabile il contributo spinale. Un ulteriore supporto all' origine corticale di questi effetti veniva anche dall' osservazione che treni di rTMS sottosoglia, non alteravano l' eccitabilità del riflesso H (Touge et al. 2001).

Altri autori tuttavia hanno riportato risultati diversi. Siebner e coll. (1999b), hanno riscontrato che treni di stimoli a bassa frequenza (1 Hz) ed intensità sottosoglia (90 % rMTh) erogati sull' area motoria della mano, non modificavano l' ampiezza del MEP, nè la MTh, la curva input-output, la durata del SP, l' inibizione (ICI) e la facilitazione (ICF) da doppio stimolo. Fitzgerald e coll. (2002) hanno riportato che, dopo stimolazione ripetitiva a 1 Hz, sottosoglia, i MEP a riposo rimanevano invariati, mentre aumentava la rMTh. In linea con essi, Gerschlager e coll. (2001), usando rTMS ad intensità inferiore a quella della aMTh, non avevano riscontrato modificazioni dell' ampiezza del MEP, e Munchau e coll. (2002) analogamente non hanno riportato modificazioni di MTh, ICI, ICF, durata del SP e curva input-output. Al contrario, la rTMS ad 1 Hz e 90 % aMTh, applicata sull' area premotoria, determinava un' inibizione del MEP (Gerschlager et al. 2001, Munchau et al. 2002).

Gli effetti della rTMS dell' area motoria, a bassa frequenza ed intensità sottosoglia, sulla ICI ed ICF valutate con la metodica del doppio stimolo, sono controversi. Alcuni autori non hanno riscontrato alcun effetto (Gerschlager et al. 2001, Munchau et al. 2002, Pascual Leone et al. 1998, Siebner et al. 1999b). Altri hanno ottenuto una riduzione di ICF e normale ICI (Romero et al. 2000). In un altro studio, la rTMS sottosoglia a 5 Hz determinava una riduzione della ICI per 10 minuti (Peinemann et al. 2000).

Al contrario della rTMS a bassa frequenza, quella ad alta frequenza, sottosoglia, determina un incremento dell' ampiezza del MEP, come è stato descritto da Maeda e coll. (2000b) che hanno utilizzato una rTMS a frequenza di 20 Hz ed intensità pari al 90 % della rMTh, applicata sull' area motoria della mano, riscontrando un incremento di ampiezza del MEP che persisteva per circa 15 minuti.

Oltre alla frequenza ed all'intensità di stimolazione impiegate, un' altra variabile che sembra importante ai fini degli effetti della rTMS sull' eccitabilità corticale, è il numero di stimoli somministrati. In particolare, Touge e coll. (2001), applicando la rTMS ad 1 Hz sull' area motoria della mano, hanno riportato una maggiore riduzione di ampiezza del MEP con treni di 1500 stimoli che con treni di 150. Inoltre, il maggior numero di stimoli del treno, riduce la variabilità degli effetti modulatori, che nel complesso è minore con la rTMS a bassa frequenza che con quella ad alta frequenza; gli effetti della prima inoltre tendono a persistere più a lungo di quelli della seconda (Chen et al. 1997, Maeda et al. 2000b).

La rTMS a bassa frequenza è stata applicata sperimentalmente anche su aree corticali diverse da quella motoria. In particolare, treni condizionanti ad 1 Hz sulla corteccia visiva, hanno determinato un innalzamento della soglia per l' induzione dei fosfeni (Borojerdj et al. 2000). Dopo rTMS ad 1 Hz sulla corteccia motoria primaria, ma non sulla corteccia sensitiva primaria, risulta inoltre ridotta l' ampiezza dei potenziali evocati sensitivi ipsilaterali (Enomoto et al. 2001). La rTMS ad 1 Hz sulla corteccia prefrontale dorsolaterale altera l' apprendimento di sequenze in modo specifico per l' informazione spaziale (Robertson et al. 2001). Lesioni "virtuali" indotte con la rTMS sulla corteccia parietale nell' uomo, hanno determinato un incremento dell' attenzione visuo-spaziale ipsilaterale (Hilgetag et al. 2001). La rTMS applicata sul cervelletto umano infine, ha determinato una maggiore variabilità di accuratezza nel "tapping" cadenzato delle dita (Theoret et al. 2001).

Una evoluzione più recente degli studi di rTMS nell' uomo è derivata dalla combinazione di questa metodica con tecniche di neuroimmagine funzionale (fMRI, PET), che hanno permesso di documentare la riduzione o l' aumento del flusso ematico o del metabolismo nell' area stimolata rispettivamente con rTMS a bassa (1 Hz) e ad alta (10-20 Hz) frequenza della corteccia motoria (Pascual Leone et al. 1998, Siebner et al. 1998, Fox et al. 1997). Fenomeni simili sono stati descritti anche con la rTMS di altre aree corticali come l' area oculogira frontale e la corteccia prefrontale dorsolaterale (Paus et al. 1997, Kimbrell et al. 1999). Tuttavia, anche quando la rTMS viene somministrata ad intensità sottosoglia motoria, non è possibile escludere del tutto il possibile contributo di refferenze spinali ai risultati descritti delle indagini con neuroimmagini. Nonostante ciò, la combinazione della rTMS con la PET con traccianti neurotrasmettitoriali o con la MRI in spettroscopia, può divenire un nuovo strumento per lo studio dell' anatomia funzionale neurochimica nel soggetto sano e in patologia.

I meccanismi della modulazione dell' eccitabilità corticale evidente anche dopo la fine del treno di rTMS (*after effects*) sono tuttora poco chiari. Il potenziamento (LTP) e la depressione (LTD) a lungo termine (Gustafsson e Wigstrom 1988, Christie et al. 1994) della trasmissione sinaptica corticale o di meccanismi neuronali strettamente connessi, sono stati proposti come possibili meccanismi per spiegare gli effetti della rTMS ad alta e a bassa frequenza rispettivamente. Gli studi su animali suggeriscono inoltre che la modulazione dei neurotrasmettitori (Ben-Shachar et al. 1997, Keck et al. 2000) e l' induzione genica (Hausmann et al. 2000, Ji et al. 1998) possano contribuire a spiegare questi effetti modulatori a lungo termine della rTMS. Sono tuttavia necessari ulteriori studi su modelli animali con l' uso di coil di appropriate dimensioni, per confermare questi risultati.

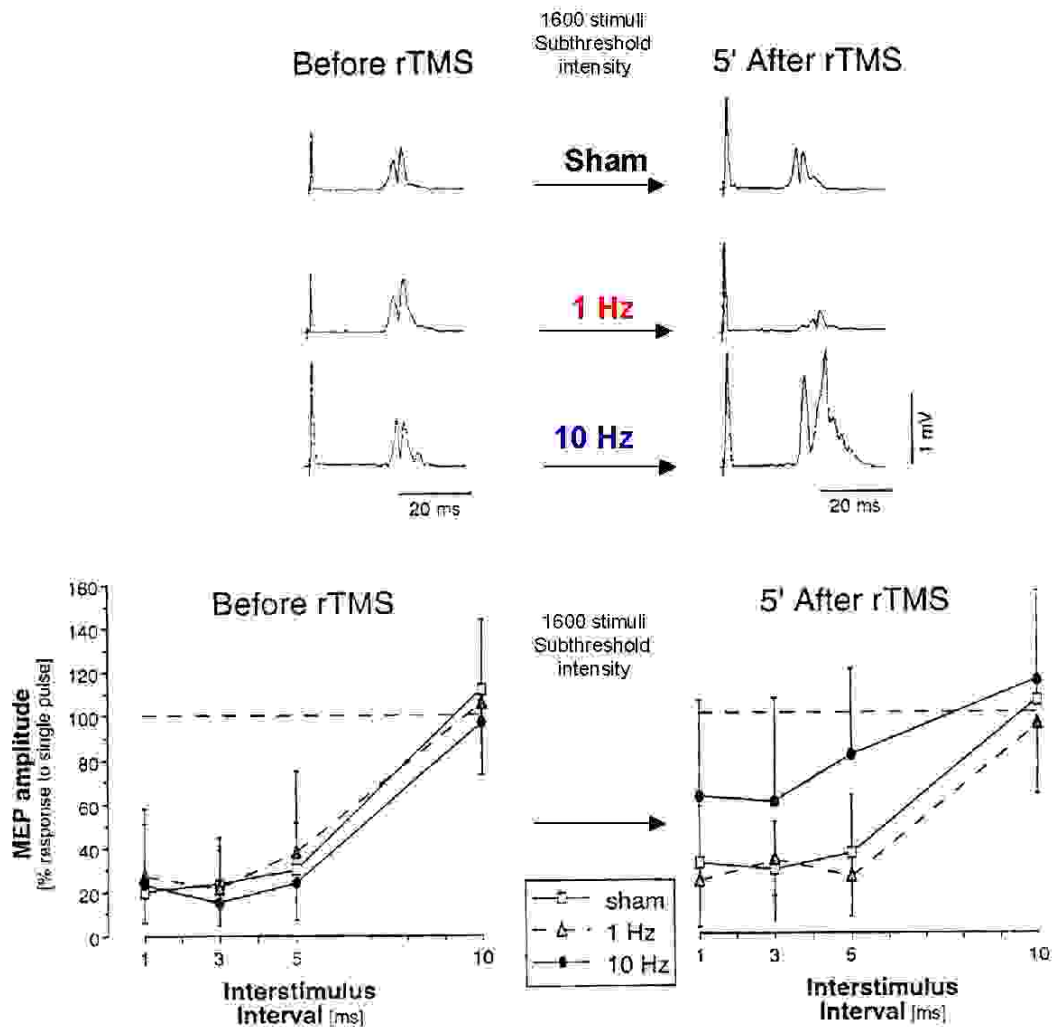


Figura 19. Effetti evidenti 5 minuti dopo rTMS sottosoglia, a diversa frequenza, sull' ampiezza del MEP e su ICI e ICF. Da Tergau et al. 1999.

STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA RIPETITIVA (rTMS): applicazioni cliniche

La possibilità, fornita dalla rTMS, di modificare, anche a lungo termine, l' eccitabilità di diverse aree della corteccia cerebrale, ha determinato una notevole spinta innovativa nell' ambito delle neuroscienze, ma anche, e forse soprattutto, in ambito clinico per le possibili implicazioni terapeutiche di questa metodica, potenzialmente utile per "normalizzare" livelli patologicamente aumentati o ridotti di attività corticale. Diversi studi sugli effetti terapeutici della rTMS in varie patologie neurologiche stanno fornendo risultati incoraggianti. Tuttavia, anche nel caso di risultati positivi, potrebbe non esserci un nesso di causalità tra miglioramento del parametro clinico ed effetto della rTMS. È ancora necessaria una maggiore conoscenza delle basi fisiologiche degli effetti comportamentali di questa tecnica. Inoltre, per stabilire delle indicazioni cliniche terapeutiche per la rTMS, sono necessari trial clinici multicentrici randomizzati e ben controllati su un elevato numero di pazienti. A tale proposito appare inoltre opportuna una considerazione sui rischi ed i relativi criteri di sicurezza, che riguardano essenzialmente la potenziale induzione di crisi epilettiche.

Il **rischio di induzione di crisi epilettiche** in corso di rTMS ad alta frequenza ed intensità, risiede nell' effetto di aumento dell' eccitabilità corticale e nella tendenza, anche nel soggetto sano, alla diffusione dell' eccitazione ad aree limitrofe a quella stimolata, secondo la rappresentazione somatotopica, con la progressione del treno di stimoli. I primi studi al riguardo riportavano l' incidenza di induzione di crisi in corso di rTMS in pazienti epilettici (Dhuna et al. 1991, Pascual-Leone et al. 1992), eventualità del tutto infrequente con la TMS a stimolo singolo (Hufnagel ed Elger 1991). L' incidenza complessiva di crisi epilettiche indotte dalla rTMS è stata stimata all' 1-2 % (Wassermann 1998). In vista di questo rischio, sono state pubblicate linee guida per la

sicurezza, riguardanti la frequenza e l' intensità degli stimoli (Wassermann 1998). Anche l' intervallo tra treni successivi sembra essere importante ai fini del rischio di induzione di crisi epilettiche e, secondo Chen e coll. (1997), questo dovrebbe essere superiore ad 1 secondo.

La possibile epilettogenicità della rTMS infine, potrebbe essere correlata al fenomeno del *kindling*, ben conosciuto nei modelli animali, associato al fenomeno della *long term potentiation*, che produce una modificazione a lungo termine della trasmissione sinaptica e dell' eccitabilità cellulare.

Il trattamento della **depressione**, tra i potenziali usi clinici della rTMS, è stato quello più studiato nella speranza che determinasse gli stessi risultati di quello elettroconvulsivante, senza avere gli stessi effetti collaterali. Effetti benefici persistenti sono stati riportati, negli studi più recenti, in circa il 40 % dei pazienti con depressione farmaco-resistente (Pascual Leone et al. 1996, Fitzgerald et al. 2002). Sia la rTMS ad alta frequenza della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra, sia quella a bassa frequenza sul lato destro possono migliorare la depressione. Questi effetti clinici trovano inoltre supporto nelle evidenze sperimentali riguardanti le modificazioni, indotte dalla rTMS, dei livelli cerebrali di dopamina e catecolamine, e del flusso ematico cerebrale regionale valutato nell' uomo con la PET. Kimbrell e coll. (1999) hanno suggerito che i pazienti con documentato ipermetabolismo cerebrale risponderebbero meglio alla rTMS a bassa frequenza, e viceversa per quelli con metabolismo ridotto, e ciò è in linea con gli effetti frequenza-dipendenti della rTMS sulla eccitabilità della corteccia motoria.

Secondo una recente revisione del Cochrane library database sull' efficacia di questo trattamento, la rTMS determina un sensibile ma transitorio effetto antidepressivo nei pazienti affetti da depressione maggiore, senza consistenti effetti collaterali cognitivi (Martin et al. 2002). Sempre da una revisione del Cochrane library database riguardante

gli studi sull' applicazione della rTMS nei **disturbi d' ansia** invece, non emergono tuttora evidenze sufficienti a provare un effetto terapeutico riproducibile in questi pazienti (Martin et al. 2003).

Pascual Leone e coll. (1994b) hanno riportato per primi, in cinque pazienti con **malattia di Parkinson**, un miglioramento funzionale della mano controlaterale alla corteccia motoria stimolata con rTMS sottosoglia motoria, a frequenza di 5 Hz. I modesti benefici sono stati poi riprodotti in altri studi (Siebner et al. 1999a). Ci sono due razionali per la sperimentazione di questa metodica nei pazienti Parkinsoniani: primo, l' incremento dell' eccitabilità corticale al drive talamo-corticale, ritenuto deficitario in questa malattia; secondo, la modificazione sottocorticale del metabolismo delle catecolamine attraverso la stimolazione corticale (Ben-Shachar et al. 1997, Keck et al. 2000). Strafella e coll. (2001a, 2003) hanno dimostrato recentemente che la rTMS della corteccia prefrontale e della corteccia motoria primaria incrementano il rilascio di dopamina nello striato. Altri studi accurati e sistematici tuttavia, non hanno mostrato alcun effetto clinico (Ghabra et al. 1999). Questi risultati contraddittori per la rTMS nella malattia di Parkinson richiamano l' attenzione sulla difficoltà di provare un effetto clinico terapeutico, sulla verosimile variabilità interindividuale degli effetti della rTMS e sull' importanza di non estrapolare da un cambiamento sintomatologico acuto ottenuto in pochi pazienti, una pretesa di applicabilità terapeutica (Kobayashi e Pascual Leone 2003).

Dopo che studi fisiologici sulla **distonia** compito-specifica avevano suggerito la presenza di una ipereccitabilità della corteccia motoria o un deficit di inibizione intracorticale (Hallett 1998), si è tentato di usare la rTMS ad 1 Hz della corteccia motoria per trattare pazienti con crampo dello scrivano (Siebner 1999b). Il miglioramento del deficit di inibizione intracorticale e della scrittura durava al massimo

3 ore dopo l' applicazione di un treno di rTMS della durata di 30 minuti, ma determinava benefici clinici solo in due dei sedici pazienti studiati.

Nei **tic** è riportato un simile abnorme incremento di eccitabilità corticale (Ziemann et al. 1997) e la rTMS ad 1 Hz della corteccia motoria può ridurre la frequenza dei tic (Karp et al. 1997). Questi effetti sono transitori, ma i dati supportano l' ipotesi dell' alterazione dei meccanismi inibitori nella corteccia motoria.

Diversi altri studi hanno valutato le potenzialità terapeutiche della rTMS a bassa frequenza in altre patologie, per esempio l' **epilessia farmaco-resistente** (Tergau et al. 1999) ed il **mioclono corticale** (Wedegaertner et al. 1997), ed hanno dimostrato una significativa riduzione della frequenza delle crisi o dei movimenti involontari, ma in pochi pazienti. Una logica simile potrebbe essere applicabile alla **spasticità**, al **dolore neurogeno intrattabile** o alla **schizofrenia**, ove la soppressione di un abnorme incremento dell' eccitabilità corticale potrebbe determinare un miglioramento sintomatico (Kobayashi e Pascual Leone 2003).

Il recupero funzionale dopo un **ictus cerebrale** può essere favorevolmente influenzato dalla rTMS mediante la soppressione della plasticità corticale maladattativa ed il potenziamento dell' attività corticale adattativa per migliorare l' azione della neuroriabilitazione. Studi di neuroimmagine funzionale dopo uno stroke mostrano un' aumentata attività nelle aree cerebrali non danneggiate (Cao et al. 1988, Marshal et al. 2000), ma il ruolo di queste è controverso (Netz et al. 1997). L' attivazione del cervello non lesionato potrebbe almeno in parte riflettere la riorganizzazione corticale adattativa che promuove il recupero funzionale, ma alcune modificazioni possono essere maladattative e generare l' insorgenza di comportamenti la cui soppressione potrebbe migliorare il risultato funzionale finale. I sintomi presenti dopo una lesione cerebrale acuta sono dovuti tanto alla sede ed estensione del danno, quanto ai cambiamenti dell' attività nel cervello preservato dalla lesione. Il *neglect* controlaterale alla lesione dopo

uno stroke, non è dovuto alla lesione stessa, ma primariamente all' iperattività dell' emisfero integro, e la rTMS ad 1 Hz della corteccia parietale indenne utilizzata per ridurre l' eccitabilità dell' emisfero integro può migliorare il neglect visuo-spaziale controlaterale alla lesione dopo uno stroke (Olivieri et al. 2001). Naeser e coll. (Naeser et al. 2002) hanno dimostrato che pazienti con afasia di Broca possono migliorare la loro abilità di denominazione dopo rTMS ad 1 Hz dell' area 45 di Brodmann di destra, che si suppone essere iperattivata nei pazienti con afasia non fluente che non recuperano. Questi effetti sono transitori ed è prematuro proporli realisticamente per applicazioni terapeutiche. Ciò non di meno, la rTMS delle regioni di interesse individuate con le tecniche di neuroimmagine funzionale, potrebbe chiarire le proprietà dei cambiamenti plastici dei circuiti corticali e portare in futuro a nuove modalità di intervento clinico.

SCOPO DELLO STUDIO

Valutare, in soggetti sani, gli effetti a breve, medio e lungo termine della rTMS, applicata a bassa frequenza ed intensità sottosoglia a livello della corteccia motoria primaria, sull' eccitabilità dei circuiti riflessi troncoencefalici valutati mediante il ciclo di recupero del blink reflex.

MATERIALI E METODI

Popolazione: Dieci soggetti volontari sani, età media 31 anni (range 28-36), 6 donne e 4 uomini, tutti destrimani. Nessun soggetto era fumatore, tutti riferivano un sonno ristoratore la notte precedente la valutazione, nessun soggetto aveva assunto, nelle 48 ore precedenti la valutazione, farmaci alteranti l' eccitabilità neuro-muscolare o correlati ai sistemi neurotrasmettitoriali dopaminergici, nor-adrenergici o serotoninergici, nè sostanze stimolanti come caffeina o teofillina.

Valutazione basale.

Ciclo di recupero del Blink Reflex: i soggetti sono distesi in posizione confortevole su lettino reclinabile, con gli occhi delicatamente chiusi, in un ambiente tranquillo ed a bassa illuminazione. La registrazione viene effettuata con elettrodi di superficie in Ag/AgCl applicati sul muscolo orbicolare dell' occhio bilateralmente (attivo sulla porzione media della palpebra inferiore e riferimento sulla branca zigomatica) con impedenze cutanee inferiori a 5k Ω . L' elettrodo di terra è applicato al "nasion". La stimolazione è effettuata in tutti i soggetti con il catodo posizionato sul foro sovraorbitario destro e l' anodo a distanza di 2,5 cm, sulla cute dell' osso frontale, dal lato opposto a quello dove viene applicata la rTMS. In cinque soggetti della popolazione di studio, la stimolazione è stata effettuata anche sul foro sovraorbitario

sinistro, dallo stesso lato della rTMS. Lo stimolo ha durata di 0,1 ms ed intensità tale da evocare una risposta R1 ben definita ed una risposta R2 omo e controlaterale di latenza stabile in almeno 5 trial consecutivi, in genere pari al triplo dell' intensità per la soglia di percezione dello stimolo, sottosoglia per la sensazione di dolore. Tale intensità di stimolazione viene poi tenuta costante durante tutto l' esperimento.

Il segnale EMG è amplificato (banda passante 50-2000 Hz) e registrato con un Elettromiografo convenzionale (Reporter Esaote Biomedica), digitalizzato con frequenza di campionamento di 5 kHz e memorizzato in un computer per un' analisi successiva.

Per lo studio del ciclo di recupero del blink reflex viene utilizzato un paradigma con doppio stimolo (stimolo condizionante e stimolo test di uguale intensità), con intervalli interstimolo di 100, 600, 1000, 1500 ms. Vengono effettuati 5 trial per ogni ISI, con intervallo variabile tra 15 e 30 s tra un trial e l' altro per evitare il fenomeno dell' abitudine. Le componenti R2 ipsi e controlaterali delle risposte in ciascun trial vengono registrate e quindi viene eseguita la rispettiva media. L' area della risposta R2 allo stimolo test, misurata "off-line" sull' attività EMG rettificata ed integrata, dall' *onset* al ritorno alla linea di base, viene espressa, per ogni ISI, come percentuale dell' area della risposta evocata dallo stimolo condizionante, assunta pari al 100%.

Stimolazione magnetica transcranica (TMS): i soggetti vengono invitati a tenere i muscoli della mano più rilassati possibile. Ai soggetti viene fatta indossare una cuffia da piscina in lattice su cui viene segnato il punto di stimolazione. La valutazione della soglia motoria a riposo (rMTh), dell' ampiezza massima del Potenziale Evocato Motorio (MEP) a riposo e la stimolazione ripetitiva vengono effettuate utilizzando uno stimolatore magnetico Maglite-r 25 Dantec Electronics. Si registra l' attività EMG con due elettrodi di superficie (Ag/AgCl) applicati sul muscolo FDI controlaterale alla TMS con montaggio "belly-tendon"; l' attività EMG è amplificata e registrata con un

elettromiografo convenzionale (Keypoint, Dantec Electronics) con banda passante 50-2000 Hz, digitalizzata con frequenza di campionamento di 5 kHz e memorizzata in un computer per un'analisi successiva.

È stato utilizzato un coil focale a figura di "8" con diametro di 90 mm, applicato tangenzialmente allo scalpo di sinistra, con il manico orientato posteriormente con un angolo di 45° rispetto alla linea sagittale mediana. Tale orientamento induce una corrente diretta in senso postero-anteriore nella corteccia, che recluta la maggior quantità di onde I ed è pertanto particolarmente utile in studi di eccitabilità corticale. Viene determinata la localizzazione ottimale per la stimolazione magnetica (*hot spot*), definita come il punto dello scalpo da cui si evoca, con la minore intensità, il MEP di maggior ampiezza, misurata picco a picco, registrando dal muscolo FDI di destra.

La rMTh viene determinata erogando un singolo stimolo magnetico nel punto ottimale partendo con un'intensità soprasoglia e decrescendo con step pari al 2% dell'output dello stimolatore. La rMTh viene considerata come la minima intensità tale da evocare MEP di 50 μ V di ampiezza picco a picco in 5 test su 10 consecutivi. Durante la determinazione della rMTh, si esegue il monitoraggio del rilassamento muscolare mediante feed-back EMG audio-visivo.

La rMTh viene utilizzata per determinare l'intensità della rTMS, mentre l'ampiezza massima del MEP nel muscolo FDI come parametro di eccitabilità corticospinale.

Stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS): viene utilizzato un singolo treno condizionante di 200 stimoli erogati a frequenza di 1 Hz ed intensità pari all'80% della rMTh, applicato sull'*hot spot* per il muscolo FDI precedentemente individuato, con identico orientamento del coil. La rTMS "finta" viene erogata con gli stessi strumenti e parametri e nella stessa posizione di quella "vera", ma applicando il coil perpendicolarmente al piano tangenziale allo scalpo.

Disegno dello studio.

In una prima sessione sperimentale si determina, in condizioni basali, in ciascun soggetto della popolazione in studio, il ciclo di recupero del blink reflex come sopra descritto, la rMTh, la posizione dell'*hot spot* e l' ampiezza massima del MEP a riposo stimolando l' emisfero sinistro e registrando dal muscolo FDI della mano controlaterale. Prima di procedere con la rTMS si verifica che lo stimolo magnetico, erogato ad intensità soglia nel punto di stimolazione ottimale, non evochi alcun segnale registrabile dai muscoli orbicolari degli occhi, al fine di escludere un' attivazione diretta delle afferenze o delle efferenze del circuito da parte della TMS.

Si eroga quindi il treno condizionante di rTMS ("vera") mantenendo fisso il coil nella posizione utilizzata per la determinazione dei parametri di TMS.

L'ampiezza massimale del MEP a riposo ed il ciclo di recupero del BR vengono rivalutati a 30 s (breve termine), 15 min (medio termine) e 60 min (lungo termine) dalla fine del treno di rTMS condizionante.

In cinque soggetti della popolazione di studio è stato inoltre valutato il recupero del BR da stimolo SO sinistro (ipsilaterale alla rTMS), all'ISI 1500 ms, in condizioni basali ed a breve termine dopo rTMS, al fine di localizzare meglio la sede anatomica, a livello troncoencefalico, su cui si esercita la modulazione corticale.

In una sessione successiva, a distanza di una settimana dalla prima, viene valutato, negli stessi soggetti, il ciclo di recupero del BR in condizioni basali ed a breve termine dopo la rTMS "finta".

Analisi statistica dei dati.

È stata effettuata un' analisi statistica non-parametrica, utilizzando il test di Wilcoxon per dati appaiati e confrontando:

- 1) l' area della R2 test ipsi e controlaterale basale (% dell' area della rispettiva R2 condizionante) con l' area della R2 test ipsi e controlaterale dopo rTMS a breve, medio e lungo termine per ciascun ISI;
- 2) l' ampiezza massima del MEP basale con quella dopo rTMS a breve, medio e lungo termine;
- 3) l' area della R2 test ipsi e controlaterale basale con l' area della R2 test ipsi e controlaterale a breve termine dopo rTMS “finta”, per ciascun ISI.
- 4) l'area della R2 condizionante basale all'ISI 1500 ms, con l'omologo valore ottenuto dopo rTMS (“vera” e “finta”), in modo da verificare l'effetto di eventuali modificazioni della R2 condizionante dopo rTMS, sul recupero della R2 test e quindi sull'eccitabilità del BR.
- 5) l'area della R2 test ottenuta da SO destro (controlaterale alla rTMS) per ciascun ISI, con quella da SO sinistro (ipsilaterale alla rTMS), nelle varie condizioni sperimentali.
- 6) l'area della R2 test basale, per ciascun ISI, ottenuta nella prima sessione (rTMS “vera”), con quella ottenuta nella seconda sessione (rTMS “finta”).

Valori di $p \leq 0,05$ sono considerati significativi. I risultati sono espressi come medie \pm ES.

RISULTATI

1. Effetto della rTMS sul MEP

Il valore medio della rMTh era 30,8% ($\pm 2,2$), per cui l'intensità della rTMS era il 24,6% del massimo output di potenza dello stimolatore usato.

L'ampiezza massima del MEP basale era significativamente ridotta a breve e medio termine dopo rTMS, rispettivamente del 23% ($p=0,002$) e del 15% ($p=0,008$), mentre non mostrava modificazioni significative a lungo termine dopo rTMS (fig. 22).

Il singolo stimolo magnetico, erogato ad intensità soglia sull'*hot spot* del muscolo FDI, non ha evocato, in alcun soggetto, attività EMG registrabile nei muscoli orbicolari degli occhi.

2. Ciclo di recupero del BR basale

Il ciclo di recupero del BR basale medio nella popolazione di studio è rappresentato nelle figure 23 e 24 (rispettivamente sessione con rTMS “vera” e “finta”).

3. Effetti della rTMS sul BR

Il valore medio dell'area della risposta R2 condizionante è risultato $5,18 \pm 1,03$ mV/ms in condizioni basali e $4,15 \pm 0,91$ mV/ms dopo rTMS “vera”. Nella sessione con rTMS “finta” il valore medio dell'area della R2 condizionante era $3,92 \pm 0,89$ mV/ms in condizioni basali e $4,02 \pm 0,91$ mV/ms dopo rTMS “finta”. In entrambe le condizioni sperimentali non emergevano differenze significative tra i risultati ottenuti in condizioni basali e quelli dopo rTMS.

4. Effetti della rTMS “vera” sul ciclo di recupero del BR

Il recupero della R2 sia ipsi (iR2) sia controlaterale (cR2) è significativamente soppresso a breve e, in minor misura, a medio termine dopo la rTMS “vera”, rispetto ai corrispondenti valori basali, con la sola eccezione del recupero di R2 all'ISI 600 ms a medio termine dopo rTMS, la cui soppressione non raggiungeva la significatività statistica. Inoltre, l'entità della soppressione del recupero di R2 dopo rTMS aumentava

all'aumentare della durata dell'ISI considerato (fig. 23). Non è stata rilevata alcuna modificazione statisticamente significativa del ciclo di recupero di R2 a lungo termine dopo rTMS, rispetto al basale (fig. 23).

In particolare, la risposta R2 test risultava totalmente soppressa all'ISI 100 ms sia in condizioni basali sia dopo rTMS. I valori di riduzione percentuale media dell'area della R2 test (iR2 e cR2) rispetto al rispettivo valore basale, a breve e a medio termine dopo rTMS “vera”, sono riportati, per ciascun ISI, nella tabella 3.

	iR2	cR2	iR2	cR2
	breve termine	breve termine	medio termine	medio termine
ISI 600 ms	32%	35%	18%*	25%*
ISI 1000 ms	40%	42%	32%	34%
ISI 1500 ms	43%	46%	38%	35%

* $p > 0,05$

Tabella 3. Riduzione percentuale, rispetto al basale, dell'area di R2 test (iR2 e cR2 da stimolo SO a destra) a breve e a medio termine dopo rTMS “vera” ai diversi ISI (medie \pm ES).

Inoltre, valutando il recupero di R2 all'ISI 1500 ms mediante stimolo SO a sinistra (ipsilaterale alla rTMS), iR2 non mostrava modificazioni significative, mentre l'area di cR2 presentava una riduzione significativa, rispetto al basale, rispettivamente del 40% e del 37% a breve ed a medio termine dopo rTMS.

5. Effetti della rTMS “finta” sul ciclo di recupero del BR

Non sono risultate differenze statisticamente significative tra la curva di recupero di R2 basale ottenuta nella sessione con rTMS “vera” e quella ottenuta nella sessione successiva con rTMS “finta”.

Il ciclo di recupero di R2 non ha mostrato modificazioni significative a breve termine dopo rTMS “finta” rispetto al basale (fig. 24).

Nella figura 25 infine è rappresentato il recupero di R2 all'ISI 1500 ms, in un soggetto rappresentativo della popolazione di studio, a breve termine dopo rTMS “finta” (A),

dopo rTMS “vera” con stimolo SO controlaterale (B) e dopo rTMS “vera” con stimolo SO ipsilaterale (cR2) (C).

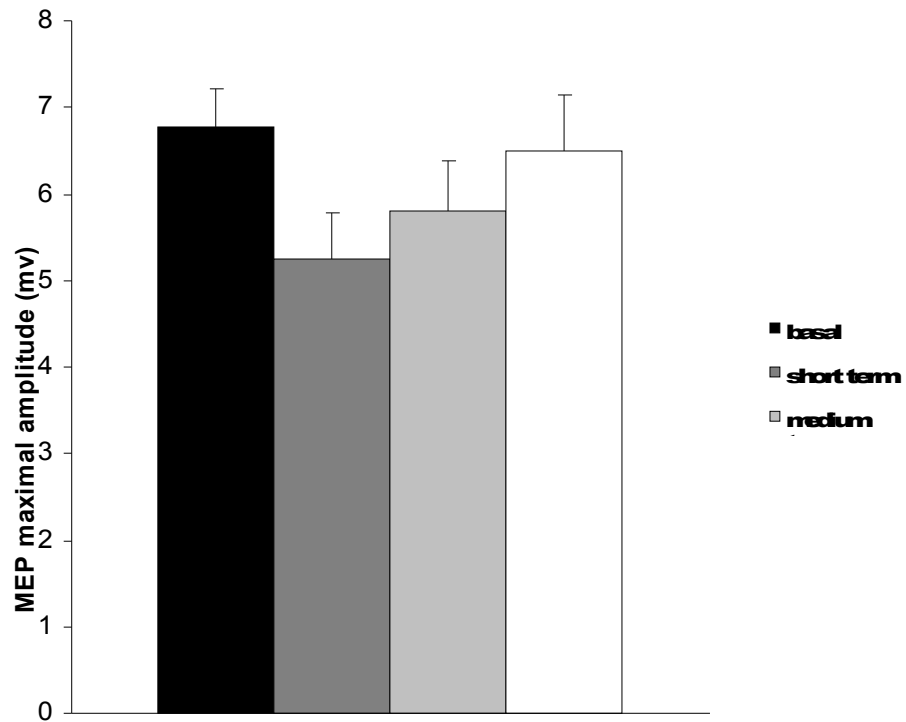


Fig. 22 Effetto della rTMS a 1 Hz ed intensità sottosoglia, erogata su M1 di sinistra, sull' eccitabilità corticospinale, espressa dall'ampiezza massima del MEP registrato dal muscolo FDI controlaterale a riposo. Ciascuna colonna rappresenta il valore medio dell'ampiezza massima del MEP dei soggetti di studio al baseline (colonna nera) e dopo rTMS a breve (30 s, colonna grigio scuro), medio (15 min, colonna grigio chiaro) e lungo termine (60 min, colonna bianca). Barre di errore equivalenti all'ES.

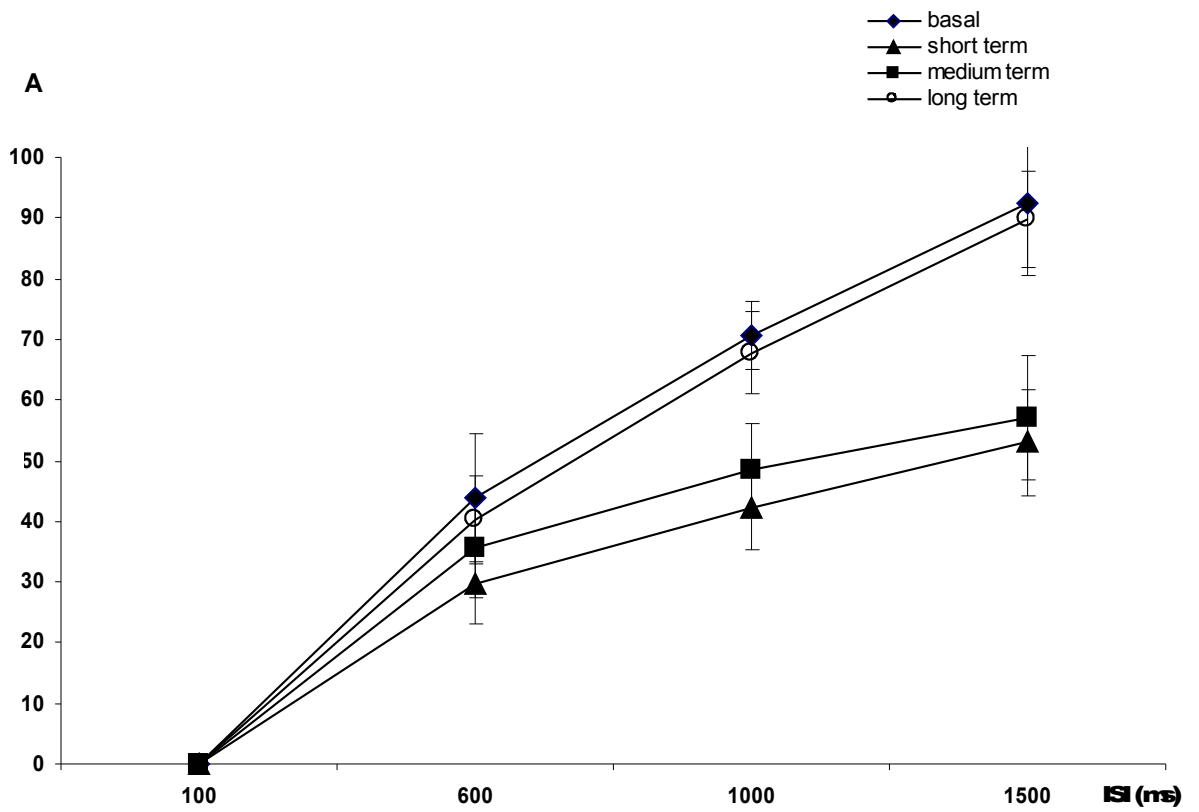


Fig. 23 Curve di recupero del BR medie (\pm ES) in condizioni basali (rombi), a breve (30 s, triangoli), medio (15 min, quadrati) e lungo termine (60 min, cerchi) dopo rTMS “vera”. L’area di iR2 test, espressa come percentuale di quella di iR2 condizionante (asse verticale), è rappresentata in funzione dell’ISI (asse orizzontale).

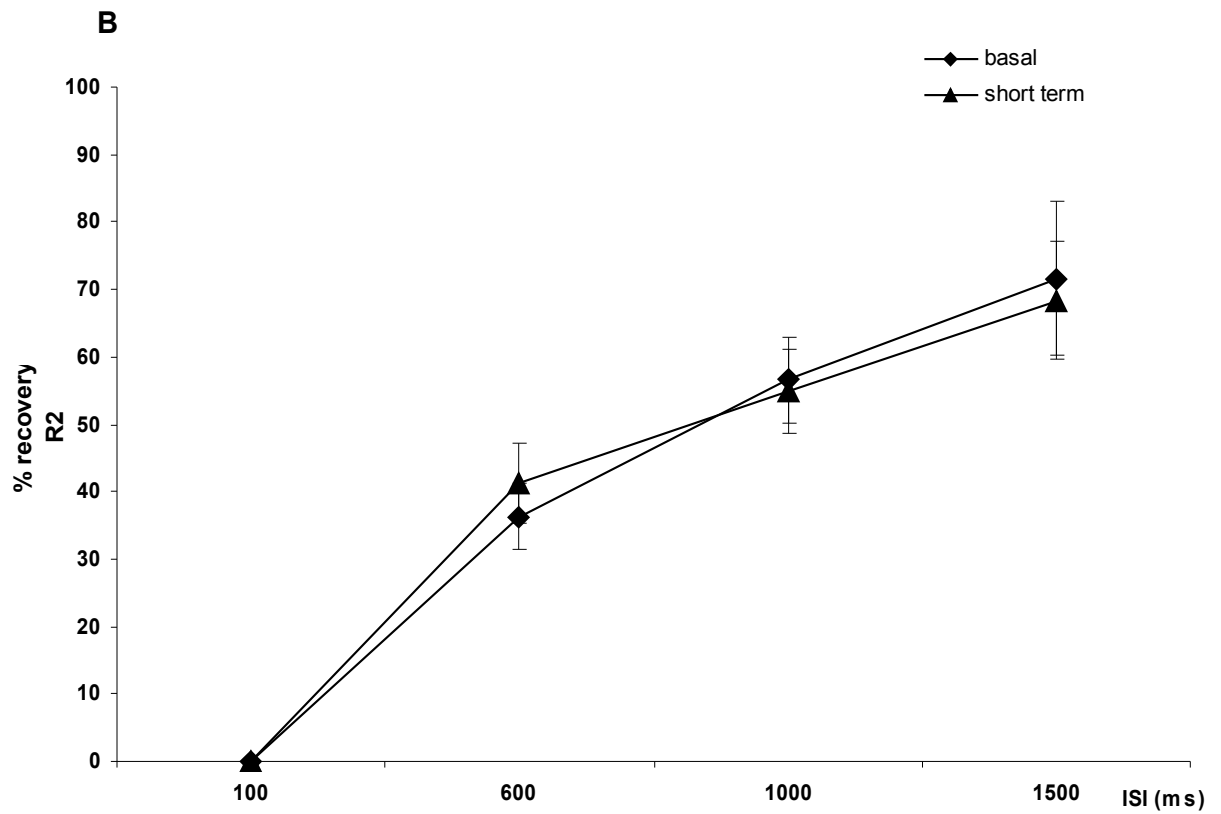


Fig. 24 Curve di recupero del BR medie (\pm ES) in condizioni basali (rombi) ed a breve termine (30 s, triangoli) dopo rTMS “finta”. L’area di iR2 test, espressa come percentuale di quella di iR2 condizionante (asse verticale), è rappresentata in funzione dell’ISI (asse orizzontale).

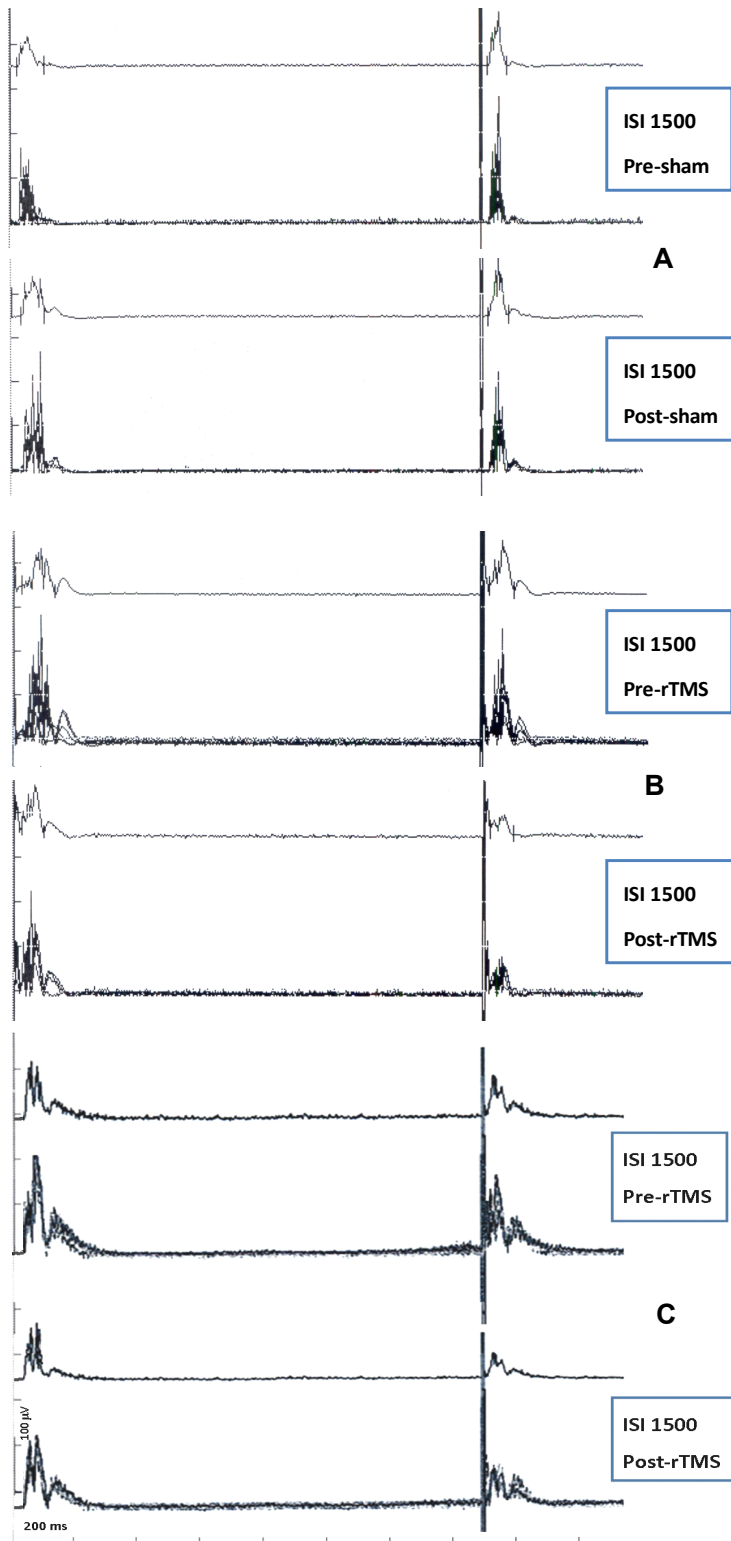


Fig. 25 Recupero di R2 in un soggetto rappresentativo, in condizioni basali e 30 s dopo rTMS “finta” (A); in condizioni basali e 30 s dopo rTMS “vera” con stimolo SO controlaterale (B); in condizioni basali e 30 s dopo rTMS “vera” con stimolo SO ipsilaterale (cR2) (C). Sono rappresentate le risposte R2 condizionante e test all’ISI 1500 ms. Le tracce superiori rappresentano le medie dei risultati, quelle inferiori le risposte, sovrapposte e rettificate, nei diversi trial.

DISCUSSIONE

Nel nostro studio si conferma l' effetto inibitorio della rTMS a bassa frequenza ed intensità sottosoglia, sull' eccitabilità basale della corteccia motoria.

La rTMS inoltre ha determinato una modulazione prolungata dell' eccitabilità del BR valutata con il paradigma del doppio stimolo SO.

Il ciclo di recupero basale della nostra popolazione di studio ha mostrato un comportamento simile a quello riportato in letteratura (Esteban, 1999; Cruccu and Deuschl, 2000; Aramideh and Ongerboer de Visser, 2002).

La risposta tardiva del BR (R2) non si modificava significativamente dopo la rTMS e ciò indica che le modificazioni di eccitabilità corticale indotte da tale procedura, non alterano il BR semplice.

Il recupero della R2 nel paradigma con doppio stimolo, risultava significativamente soppresso a breve e medio termine dopo la rTMS (figg. 23 e 25B-C). Ciò indica una prolungata riduzione di eccitabilità del riflesso. Al contrario, la rTMS "finta" è risultata ininfluenza sul ciclo di recupero della R2 (figg. 24 e 25A) e ciò suggerisce sia che la modulazione dell' eccitabilità del BR ha luogo ad un livello soprasegmentario, sia che l' effetto della rTMS "vera" non deriva da un bias tecnico: in particolare possiamo escludere l' influenza dello stimolo acustico ripetitivo dovuto al "click" del coil durante il treno di rTMS, sull' inibizione del recupero di R2, dal momento che esso ha le stesse caratteristiche nella rTMS "vera" e in quella "finta". Possiamo inoltre escludere il ruolo sia dell' intensità dello stimolo elettrico SO, che era tenuta costante nelle diverse condizioni sperimentali, sia della frequenza di ripetizione dello stimolo SO, che era variabile proprio per evitare il fenomeno dell' abitudine delle risposte (Esteban, 1999; Sommer and Ferbert, 2001).

L'intensità della TMS usata non era in grado di evocare un BR registrabile nei soggetti in studio, ciononostante non si può escludere che possa aver causato una transitoria soppressione del BR (Pellegrini et al. 1995), e la rTMS ad 1 Hz potrebbe aver causato una depressione a lungo termine del sistema trigeminale (Ellrich e Schorr, 2004). Per escludere questa interazione abbiamo preventivamente esaminato l'effetto della rTMS applicata controlateralmente allo stimolo SO, ma ciò non esclude una possibile interferenza con il circuito della R2 controlaterale, sebbene non abbiamo osservato differenze significative di comportamento tra la R2 ipsi e controlaterale nelle diverse condizioni sperimentali.

L'effetto inibitorio della rTMS sul recupero di R2 era presente bilateralmente (iR2 e cR2) con la stimolazione SO controlaterale alla sede di applicazione della rTMS. Un simile effetto inibitorio si è osservato su cR2, valutata all'ISI 1500 ms, con la stimolazione SO ipsilaterale alla sede di applicazione della rTMS (fig. 25C). Queste osservazioni, insieme a quella che la rTMS sopprime il recupero della R2 test senza influenzare la relativa R2 condizionante, suggerisce che la sede della modulazione potrebbe essere a livello del network interneuronale troncoencefalico della componente R2 del BR (Catz et al., 1988).

Inoltre, è del tutto improbabile un effetto diretto sui motoneuroni faciali dal momento che questi non modificano la propria eccitabilità a riposo, durante il periodo silente post-TMS dei muscoli orbicolari degli occhi (Leis et al., 1993).

La riduzione della eccitabilità del BR osservata dopo rTMS a bassa frequenza della corteccia motoria, può essere spiegata con l'effetto inibitorio sulla corteccia che causerebbe una riduzione del drive facilitatorio corticale sul network interneuronale reticolare bulbare del BR, con una modalità simil-lesionale (virtual-lesion mode).

Questa ipotesi è sostenuta dalla dimostrazione, nell'uomo, dell'esistenza di proiezioni dirette da aree corticali motorie alla formazione reticolare bulbare laterale (Kuypers, 1958).

Inoltre, esistono vari argomenti riguardo alla modulazione corticale di R2: il riflesso corneale (il cui circuito in parte è sovrapponibile a quello della componente R2 del BR), è ridotto o abolito in pazienti con lesioni sovratentoriali, e questo può verificarsi anche in assenza di chiari deficit sensitivi (Fisher et al., 1979; Berardelli et al., 1985). Le lesioni emisferiche alterano le risposte del BR, in particolare quelle tardive, che possono essere marcatamente depresse o assenti quando il BR viene registrato stimolando il lato affetto della faccia, anche a notevole distanza dall'esordio della lesione (Esteban, 1999). Studi di eccitabilità del BR in soggetti con lesioni emisferiche vascolari, hanno evidenziato una maggiore disfacilitazione a livello degli interneuroni troncoencefalici piuttosto che a livello dei motoneuroni, con una perdita diffusa di eccitabilità controlaterale alla lesione. In questi studi, lo studio TC dei pazienti con e senza alterazioni del BR, ha mostrato differenze esclusivamente nelle dimensioni della lesione, che risultavano maggiori nei primi, ma non nella sua sede. Nel complesso, tali osservazioni suggeriscono l'esistenza di una facilitazione crociata del BR, proveniente da estese aree corticali (Kimura, 1974; Fisher et al., 1979; Dengler et al., 1982; Berardelli et al., 1983; Kimura et al., 1985; Catz et al., 1988). La perdita di tali influenze soprasegmentali è probabilmente implicata nella depressione delle risposte tardive del BR durante il coma di origine sopratentoriale, così come dopo la somministrazione di dosi terapeutiche di diazepam (Lyon et al., 1972; Kimura, 1989). Anche il livello di arousal influenza profondamente l'eccitabilità di R2 (Boelhouwer e Brunia, 1977). Inoltre, le risposte R2 mostrano una chiara soppressione durante il periodo silente post-TMS dei muscoli orbicolari degli occhi (Leis et al., 1993).

Infine, sulla base delle osservazioni sperimentali di Strafella e coll. in studi con PET cerebrale su umani dopo rTMS della corteccia motoria e prefrontale, possiamo almeno ipotizzare, nei nostri soggetti, un rilascio di dopamina nello striato indotto dalla rTMS (Strafella et al., 2001, 2003). L'eccitabilità del BR è fortemente dipendente dal livello di dopamina nel sistema nervoso centrale: un incremento di eccitabilità del riflesso si ha con i livelli inferiori, come nei Parkinsonismi, e viene eliminato con l'uso di farmaci dopaminergici (Penders e Delwaide, 1971). Al contrario, nella malattia di Huntington, in cui esiste una relativa iperfunzione dopaminergica, si ha una ipoeccitabilità del BR (Esteban e Gimenez-Roldan, 1975).

Il decorso temporale dell'inibizione del MEP dopo rTMS osservato nel nostro studio è meritevole di una breve discussione. Il treno singolo di 200 stimoli usato nel nostro studio come rTMS condizionante, ha prodotto una inibizione significativa del MEP a breve (30 s) e, in minor misura, a medio termine (15 min). La durata del treno (il numero di stimoli) correla con la durata dell'effetto di inibizione del MEP: treni di 150 stimoli determinano una soppressione del MEP per circa 5 min (Touge et al., 2001). D'altra parte Maeda e coll. hanno riscontrato un maggior effetto di inibizione il secondo giorno di applicazione della rTMS rispetto al primo (Maeda et al., 2000), in accordo con la dimostrazione, da parte di Wang e coll., dell'effetto simil-depressione a lungo termine, dopo treno di 240 stimoli a 8 Hz, che persisteva anche fino a 24 ore (Wang et al., 1996).

Infine, nel nostro studio abbiamo applicato la rTMS sulla regione corticale motoria della mano anzichè su quella della faccia, che sarebbe sembrata più appropriata per i nostri scopi sperimentali. Ci sono diverse ragioni alla base di questa scelta. Primo, i MEP dei muscoli della mano sono i più stabili ed hanno la minore soglia a riposo (parametro che condiziona direttamente l'intensità della rTMS) rispetto ad altri muscoli. Secondo, gli studi TC nei pazienti con lesioni vascolari emisferiche ed alterazioni del BR hanno

mostrato ampia dispersione spaziale delle lesioni e non un specifica localizzazione (Catz et al., 1988; Berardelli et al., 1983; Kimura et al., 1985). Terzo, nella valutazione della durata del periodo silente corticale del muscolo orbicolare degli occhi, dopo applicazione di TMS sulle diverse localizzazioni del sistema internazionale 10-20, Leis e coll., hanno ottenuto quello di maggior durata stimolando sul vertice (Cz) (Leis et al., 1993). Quarto, Siebner e coll., hanno dimostrato che la stimolazione di afferenti trigeminali interferisce con l'output motorio diretto ai muscoli intrinseci della mano, inducendo una inibizione bilaterale (Siebner et al., 1999). Infine, Sohn e coll., hanno recentemente dimostrato che il controllo corticale dei movimenti del distretto facciale superiore, compreso l'ammiccamento, non deriva principalmente dall'area della faccia della corteccia motoria primaria, ma piuttosto dalle regioni frontali mediali (Sohn et al., 2004).

CONCLUSIONI

La rTMS della corteccia motoria applicata con frequenza di 1 Hz ed intensità sottosoglia, determina una riduzione significativa, a breve ed a medio termine, della eccitabilità corticale e di quella del Blink Reflex valutata con il paradigma del doppio stimolo, verosimilmente in seguito alla riduzione della eccitabilità corticale ed alla conseguente riduzione della facilitazione corticale crociata, diretta al network interneuronale bulbare del BR. E' inoltre ipotizzabile che la rTMS induca un rilascio di dopamina striatale con conseguente riduzione della eccitabilità del BR.

Questi risultati, in considerazione della limitata dimensione del campione in studio, specie in relazione alla notevole variabilità biologica del BR, dovranno essere confermati in popolazioni più ampie ed usando anche diversi protocolli sperimentali, come ad esempio la valutazione degli effetti sul ciclo di recupero del BR acustico, che permetterebbe di eliminare gli effetti dovuti alla stimolazione elettrica periferica, il confronto tra effetti della rTMS e della rTES (stimolazione elettrica transcranica ripetitiva), l' applicazione della rTMS focale su altre regioni corticali come l'area motoria della faccia, l'area supplementare motoria e la corteccia cingolata, la valutazione della durata massima degli effetti osservati e la sua dipendenza dalla durata del treno di rTMS.

Se questi risultati venissero confermati, sarebbe proponibile una valutazione sperimentale degli effetti della rTMS a bassa frequenza in pazienti con ipereccitabilità patologica del BR (ad es. blefarospasmo), con la prospettiva di un futuro impiego terapeutico di tale metodica.

BIBLIOGRAFIA

Blink Reflex

1. Agostino R, Berardelli A, Cruccu G, Stocchi F, Manfredi M. Corneal and blink reflexes in Parkinson's disease with "on-off" fluctuations. *Mov Disord* 1987; 2 : 227-35.
2. Anday EK, Cohen ME, Hoffman HS. The blink reflex: maturation and modification in the neonate. *Dev Med Child Neurol* 1990; 32 : 142-50.
3. Aramideh M, Ongerboer de Visser BW. Brainstem reflexes: electrodiagnostic techniques, physiology, normative data and clinical applications. *Muscle Nerve* 2002 ; 26: 14-30.
4. Aramideh M, Ongerboer de Visser BW, Koelman CBL, Majoie CBL, Holstege G. The late blink reflex response abnormality due to lesion of the lateral tegmental field. *Brain* 1997; 120 : 1685-92.
5. Basso MA, Evinger C. An explanation for reflex blink hyperexcitability in Parkinson's disease. II. Nucleus Raphe Magnus. *J Neurosci* 1996b; 16 : 7318-30.
6. Basso MA, Powers AS, Evinger C. An explanation for reflex blink hyperexcitability in Parkinson's disease. I. Superior Colliculus. *J Neurosci* 1996a; 16 : 7308-17.
7. Basso MA, Stecker RE, Evinger C. Midbrain 6-hydroxidopamin lesions modulate blink reflex excitability. *Exp Brain Res* 1993; 94 : 88-96.
8. Bender MB. Brain control of conjugate horizontal and vertical eye movements. A survey of the structural and functional correlates. *Brain* 1980; 103 : 23-9.
9. Bender MB. Comments on the physiology and pathology of eye movements in the vertical plane. *J Nerv Ment Dis* 1960; 130 : 456-66.
10. Berardelli A, Accornero N, Cruccu G, Fabiano F, Guerisi V, Manfredi M. The orbicularis oculi response after hemispherical damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983; 46 : 837-43.
11. Berardelli A, Rothwell JC, Day BL, Marsden CD. Pathophysiology of blepharospasm and oromandibular dystonia. *Brain* 1985; 108 : 593-608.

12. Bjork A. Electromyographic studies on the coordination of antagonistic muscles in cases of abducens and facial palsy. *Br J Ophthalmol* 1954; 38 : 605-15.
13. Boelhouwer AJM, Brunia CHM. Blink reflexes and the state of arousal. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1977; 40 : 58-63.
14. Briellman RS, Rosler KM, Hess ChW. Blink reflex excitability is abnormal in patients with periodic leg movements in sleep. *Mov Disord* 1996; 11 : 710-4.
15. Broggi G, Caraceni T, Negri S. An analysis of a trigemino-facial reflex in normal humans. *Conf Neurol* 1973; 35 : 263-70.
16. Caccia M, Avanzini G, Negri S. An electrophysiological study of some trigeminofacial reflexes in Parkinson's disease before and after L-Dopa administration. *Eur Neurol* 1972; 8 : 339-51.
17. Cajal S, Ramón Y. *Histologie du système nerveux de l' homme et des vertébrés*. Madrid : Consejo Superior de Investigaciones Cientificas. 1909. 2nd impression. 1972, vol 1; p.846-7.
18. Caraceni T, Avanzini G, Spreafico R, Negri S, Broggi G, Girotti F. Study of the excitability cycle of the blink reflex in Huntington's chorea. *Eur Neurol* 1976; 14 : 465-72.
19. Chia LG, Shen WC. Wallemborg's lateral medullary syndrome with loss of pain and temperature sensation on the contralateral face: clinical, MRI and electrophysiological studies. *J Neurol* 1993; 240 : 462-67.
20. Chia LG. Late blink reflex changes in lesions of thalamus and internal capsule. *Neurology* 1997; 49 : 874-6.
21. Clay SA, Ramseye JC. The orbicularis oculi reflex in infancy and childhood. Establishment of normal values. *Neurology* 1976; 26 : 521-4.
22. Cohen LG, Ludlow CL, Warden M, Estegui M, Agostino R, Sedory SE et al. Blink reflex excitability recovery curves in patients with spasmodic dysphonia. *Neurology* 1989; 39 : 572-7.
23. Cruccu G, Deuschl G. The clinical use of brainstem reflexes and hand-muscle reflexes. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 371-87.
24. Cruccu G, Ferracuti S, Leardi MG, Fabbri A, Manfredi M. Nociceptive quality of the orbicularis oculi reflexes as evaluated by distinct opiates and benzodiazepine-induced changes in man. *Brain Res* 1991; 556 : 209-17.
25. Csecsei G. Facial reflexes of short latency. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1982; 22:39-42.

26. Davis M, Gendelman DS, Tischler MD, Gendelman PM. A primary acoustic startle circuit: lesion and stimulation studies. *J Neurosci* 1982; 2 : 791-805.
27. Dengler R, Rechl F, Struppler A. Recruitment of single motor units in the human blink reflex. *Neurosci Lett* 1982; 34 : 301-5.
28. Dimitrijevic MR, Fanagel J, Gregoric M, Nathan PW, Trontelj JK. Habituation: effects of regular and stochastic stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1972; 35 : 234-42.
29. Duranti R, Galletti R, Pantaleo T. Relationship between characteristic of electrical stimulation muscle pain and blink responses in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1983; 55 : 637-44.
30. Eekhof JLA, Aramideh M, Bour LJ, Hilgevoord AAJ, Speelman HD, Ongerboer de Visser BW. Blink reflex recovery curves in blepharospasm, torticollis spasmodica and hemifacial spasm. *Muscle Nerve* 1996; 19 : 10-15.
31. Ellrich J, Bromm B, Hopf HC. Pain-evoked blink reflex. *Muscle Nerve* 1997; 20 : 265-70.
32. Ellrich J, Hopf HC. The R3-component of the blink reflex: normative data and application in spinal lesions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 101 : 349-54.
33. Esteban A, Giménez-Roldán S. Blink reflex in Huntington's chorea and Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1975; 52 : 145-57.
34. Esteban A, Giménez-Roldán S. Reflejo nociceptivo del "orbicularis oculi". Estudio en individuos normales y en lesiones faciales periféricas. *Arch Neurobiol* 1973 ; 36 : 283-94.
35. Esteban A, Mateo D, Giménez-Roldán S. Early detection of Huntington's disease. Blink reflex and levodopa load in presymptomatic and incipient subjects. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1981; 44 : 43-8.
36. Esteban A, Molina-Negro P. Primary hemifacial spasm: a neurophysiological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986; 49 : 58-63.
37. Esteban A, Salinero E. Reciprocal reflex activity in ocular muscles. Implications in spontaneous blinking and Bell's phenomenon. *Eur Neurol* 1979; 18 : 157-65.
38. Esteban A, Traba A, Grandas F. Blinking and blepharospasm. A neurophysiological study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 103 : 90.
39. Esteban A. A neurophysiological approach to brainstem reflexes. Blink reflex. *Neurophysiol Clin* 1999; 29 : 7-38.

40. Evinger C, Basso MA, Manning KA, Sibony PA, Pellegrini JJ, Horn AKE. A role for the basal ganglia in nicotinic modulation of the blink reflex. *Exp Brain Res* 1993; 92 : 507-15.
41. Evinger C, Sibony PA, Manning KA, Fiero RA. A pharmacological distinction between the long and short latency pathways of the human blink reflex revealed with tobacco. *Exp Brain Res* 1988; 73 : 477-80.
42. Fabbri A, Cruccu MA, Sperti P, Ridolfi M, Ciampati T, Leardi MG et al. Piroxicam-induced analgesia: evidence for a central component which is not opioid mediated. *Experientia* 1992; 48 : 1139-42.
43. Feger J, Boulu R, Rossignol P. Le réflexe de clignement à la lumière : Étude de son trajet et sa facilitation par la reserpine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972 ; 32 : 247-58.
44. Ferguson IT, Lenman JAR, Johnston BB. Habituation of the orbicularis oculi reflex in dementia and dyskinetic states. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1978; 41 : 824-8.
45. Ferguson JH. Hemifacial spasm and the facial nucleus. *Ann Neurol* 1978; 4 : 97-103.
46. Ferrari E, Messina C. Blink reflex during sleep and wakefulness in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32 : 55-62.
47. Fine EJ, Senth L, Soria E. The history of the blink reflex. *Neurology* 1992; 42 : 450-4.
48. Fisher MA, Shahani BT, Young RR. Assessing segmental excitability after acute rostral lesions. II. The blink reflex. *Neurology* 1979; 29 : 45-51.
49. Hatanaka T, Asuhara A, Kobayashi Y. Electrically and mechanically elicited blink reflex in infants and children – maturation and recovery curves of blink reflex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 76 : 39-46.
50. Hatanaka T, Owa H, Hayashi N, Yoshijima S, Suehiro Y, Shinomiya et al. The blink reflex in neonates with a subsequent poor outcome. *Child Nerve Syst* 1993; 9 : 104-6.
51. Hill K, Cogan DG, Dodge PR. Ocular signs associated with hydranecephaly. *Am J Ophthalmol* 1961; 51 : 267-75.
52. Hirakoa M, Shimamura M. Neural mechanisms of the corneal blinking reflex in cat. *Brain Res* 1977; 125 : 265-75.

53. Holstege G, Tan J, vanHam JJ, Graveland GA. Anatomical observation on the afferent projections to the retractor bulbi motoneuronal cell group and other pathways possibly related to the blink reflex in the cat. *Brain Res* 1986b; 374 : 321-34.
54. Holstege G, vanHam JJ, Tan J. Afferent projections to the orbicularis oculi motoneuronal cell group: An autoradiographic tracing study in the cat. *Brain Res* 1986a; 374 : 306-20.
55. Hopf HC, Hufschmidt HJ, Stroder J. Development of the "Trigeminal-Facial" reflex in infants and children. *Ann Pediatr (Paris)* 1965; 204 : 52-64.
56. Hori A, Yashuara A, Naito H, Yashuara M. Blink reflex elicited by auditory stimulation in the rabbit. *J Neurol Sci* 1986; 76 : 49-59.
57. Hoshina Y, Sakuma. Changes in fotoptically evoked blink reflex during sleep and wakefulness. *Jpn J Oftalmol* 1991; 35 : 182-7.
58. Inagaki M, Takeshita K, Nakao S, Shiraishi Y, Oikawa T. An electrophysiologically defined trigemino-reticulo-facial pathway related to the blink reflex in the cat. *Neurosci Lett* 1989; 96 : 64-9.
59. Iriarte LM, Chacon J, Madrazo J, Chaparro P. Blink reflex in Parkinson's disease with levodopa induced dyskinesia. *Func Neurol* 1989; 4 : 257-61.
60. Jenny AB, Saper CB. Organization of the facial nucleus and cortico-facial projection in the monkey: a reconsideration of the upper motor neuron facial palsy. *Neurology* 1987; 37 : 930-9.
61. Karson C. Spontaneous eyeblink rates and dopaminergic systems. *Brain* 1983; 106 : 643-53.
62. Keane JR. Blinking to sudden illumination. *Arch Neurol* 1979; 23 : 52-3.
63. Khater-Boidin J, Duron B. The orbicularis oculi reflexes in healthy premature and full term new-borns. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 67 : 479-84.
64. Kimura J, Bodensteiner J, Yamada T. Electrically elicited blink reflex in normal neonates. *Arch Neurol* 1977; 34 : 246-49.
65. Kimura J, Harada O. Excitability of the orbicularis oculi reflex in all night sleep: its suppression in non-rapid eye movement and recovery in rapid eye movement sleep. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 33 : 369-77.

66. Kimura J, Lyon LW. Orbicularis oculi reflex in the Wallemborg syndrome: alteration of the late reflex by lesions of the spinal tract and nucleus of the trigeminal nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1972; 35 : 228-33.
67. Kimura J, Powers JM, Van Allen MW. Reflex response of orbicularis oculi muscle to supraorbital nerve stimulation. Study in normal subjects and in peripheral facial paresis. *Arch Neurol* 1969; 21 : 193-9.
68. Kimura J, Rodnitzky RL, Okawara S. Electrophysiologic analysis of aberrant regeneration after facial nerve paralysis. *Neurology* 1975; 25 : 989-93.
69. Kimura J, Wilkinson JT, Damasio H, Adams HR, Shivapour E, Yamada T. Blink reflex in patients with hemispheric cerebrovascular accident (CVA). *J Neurol Sci* 1985; 67 : 15-28.
70. Kimura J. Alterations of the orbicularis oculi reflex by pontine lesions. Study in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1970; 22 : 156-61.
71. Kimura J. Clinical uses of the electrically elicited blink reflex. In: Desmedt JE, ed. *Motor Control Mechanism in Health and Disease*, New York: Raven Press; 1983. p. 773-86.
72. Kimura J. Disorder of interneurons in parkinsonism. The orbicularis oculi reflex to paired stimuli. *Brain* 1973; 96 : 87-96.
73. Kimura J. *Electrodiagnosis in Diseases of Nerve and Muscle: Principles and Practice*. Philadelphia: Davis (FA) Pub;1989.
74. Kugelberg E. Facial reflexes. *Brain* 1952; 75 : 385-96.
75. Kuypers HGJM. Cortico-bulbar connection to the pons and lower brainstem in man. *Brain* 1958; 81 : 364-88.
76. Le Doux MS, Lorden JF, Weir AD, Smith JM. Blink reflex to supraorbital nerve stimulation in the cat. *Exp Brain Res* 1997; 116 : 104-12.
77. Leon-S FE, Suwazon S, Takenaga S, Arimura K, Osama M. The effects of tobacco smoking on the short, middle and long latency responses of the blink reflex in humans. *J Clin Neurophysiol* 1997; 14 : 144-9.
78. Lindquist C, Martensson A. Mechanism involved in the cat's blink reflex. *Acta Physiol Scand* 1970; 80 : 149-59.
79. Lozza A, Schoenen J, Delwaide PJ. Inhibition of the blink reflex component after supraorbital and index stimulation is reduced in cluster headache: an indication for both segmental and suprasegmental dysfunction? *Pain* 1997; 71 : 81-8.

80. Lyon LW, Kimura J, McCormick VF. Orbicularis oculi reflex in coma: clinical, electrophysiological and pathological correlation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1972; 35 : 582-8.
81. Magladery JW, Teasdall RD. Corneal reflexes: an electromyographic study in man. *Arch Neurol* 1961; 5 : 269-74.
82. Mao JB, Evinger C. Long-term potentiation of the Human Blink Reflex. *J Neurosci* 2001; 21: RC151.
83. Messina C, DiRosa E, Tomasello F. Habituation of blink reflexes in parkinsonian patients under levodopa and amantadine treatment. *J Neurol Sci* 1972; 17 : 141-8.
84. Messina C. On the nature and meaning of the blink reflex early response. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975; 15 : 119-24.
85. Metha AJ, Seshia SS. Orbicularis oculi reflex in brain death. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1976; 39 : 784-7.
86. Miwa H, Nohara C, Hotta M, Shimo Y, Ameyama K. Somatosensory-evoked blink response: investigation on the physiological mechanism. *Brain* 1998; 121 : 281-91.
87. Miwa H, Yamaji Y, Abe H, Mizuno Y. Evaluation of the somatosensory evoked blink response in patients with neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 60 : 539-43.
88. Nakashima K, Rothwell JC, Thompson PD, Day BL, Berardelli A, Agostino R et al. The blink reflex in patients with idiopathic torsion dystonia. *Arch Neurol* 1990; 47 : 413-6.
89. Namerow NS, Etemadi A. The orbicularis oculi reflex in multiple sclerosis. *Neurology* 1970; 20 : 1200-3.
90. Ongerboer de Visser BW, Kuypers HGJM. Late blink reflex and changes in lateral medullary lesions. An electrophysiological and neuro-anatomical study of Wallemborg's syndrome. *Brain* 1978 ; 101 : 285-94.
91. Pellegrini JJ, Evinger C. The trigeminally evoked blink reflex. II. Mechanism of paired- stimulus suppression. *Exp Brain Res* 1995; 107 : 181-96.
92. Pellegrini JJ, Horn AKE, Evinger C. The trigeminally evoked blink reflex. I. Neuronal circuits. *Exp Brain Res* 1995; 107 : 166-80.
93. Penders CA, Delwaide PJ. Blink reflex studies in parkinsonism before and during therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1971; 34 : 674-8.

94. Penders CA, Delwaide PJ. Le réflexe de clignement chez l' homme. Particularités électrophysiologiques de la réponse précoce. Arch Int Physiol Biochem 1969 ; 77 : 351-4.
95. Penders CA, Delwaide PJ. Physiologic approach to the human blink reflex. In: Desmedt JE, ed. New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology. Basel: Karger; 1973. p. 649-57.
96. Rimpel J, Geyer D, Hopf HC. Changes in the blink responses to combined trigeminal, acoustic and visual repetitive stimulation, studied in the human subject. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1982; 54 : 552-60.
97. Rossi B, Pasca SL, Sartucci F, Siciliano G, Murri L. Trigemino-cervical reflex in pathology of the brain stem and of the first cervical cord segments. Electromyogr Clin Neurophysiol 1989b; 29 : 67-71.
98. Rossi B, Risaliti R, Rossi A. The R3 component of the blink reflex in man: a reflex response induced by activation of high threshold cutaneous afferents. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1989a; 73 : 334-40.
99. Rimpl E, Gerstenbrand F, Hacke JM, Prugger M. Some observations of the blink reflex in post-traumatic coma. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1982; 54 : 406-17.
100. Rushworth G. Observations on blink reflexes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1962; 25 : 93-108.
101. Sandrini G, Alfonsi E, Martignoni E, Horowski R, Nappi G. Effects of lisuride on blink reflex habituation in Parkinson disease. Eur Neurol 1985; 24 : 374-9.
102. Sanes JN, Ison JR. Conditions that affect the thresholds of the eyeblink reflex in human. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1982; 45 : 543-9.
103. Serrats AF, Parker SA, Merino Cañas A. The blink reflex in coma and after recovery from coma. Acta Neurochir 1976; 34 : 79-97.
104. Shahani B, Young RR. Normal human flexor reflexes. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1969; 27 : 725.
105. Shahani B. The human blink reflex. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1970 ; 33 : 792-800.
106. Shahani BT, Young RR. Blink reflex in orbicularis oculi. In: Desmedt JE, ed. New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology, vol. 3. Basel: Karger; 1973. p. 641-8.

107. Shahani BT, Young RR. Human orbicularis oculi reflexes. *Neurology* 1972a; 22 : 149-54.
108. Shahani BT, Young RR. The cutaneous nature of the first component of the monkey's blink reflex. *Neurology* 1972b; 22 : 438-43.
109. Silverstein LD, Grahan FK, Galloway JM. Preconditioning and excitability of the human orbicularis oculi reflex as a function of state. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1980; 48 : 406-17.
110. Smith SJ, Lees AJ. Abnormalities of the blink reflex in Gilles de la Tourette syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52 : 895-8.
111. Snow BJ, Frith RW. The relationship of eyelid movement to the blink reflex. *J Neurol Sci* 1989; 91 : 179-89.
112. Soliven B, Meer J, Uncini A, Petajan J, Lovelace R. Physiologic and anatomic basis for contralateral R1 in blink reflex. *Muscle Nerve* 1988; 11 : 848-51.
113. Sommer M, Ferbert A. The stimulus intensity modifies the blink reflex recovery cycle in healthy subjects and in blepharospasm. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 2293-9.
114. Tackman W, Ettlin T, Barth R. Blink reflexes elicited by electrical, acoustic and visual stimuli. I. Normal values and possible anatomical pathways. *Eur Neurol* 1982; 21 : 210-6.
115. Tamai Y, Iwamoto M, Tsujimoto T. Pathway of the blink reflex in the brainstem of the cat: interneurons between the trigeminal nuclei and the facial nucleus. *Brain Res* 1986; 380 : 19-25.
116. Tamai Y, Iwamoto M, Tsujimoto T. Reactivated response of blink reflex in the cat. *Jpn J Physiol* 1982; 32 : 761-9.
117. Tanaka J. Developmental changes in electrically elicited blink reflex in infancy and childhood. *No To Hattatsu* 1989; 21 : 271-7.
118. Tokunaga A, Oka M, Murao T, Okoi H, Okumura T, Hirata T et al. An experimental study on facial reflex by evoked electromyography. *Med J Osaka Univ* 1958; 9 : 397-411.
119. Tolosa E, Monserrat L, Bayes A. Ed. by S Fahn et al. *Blink Reflex Studies with Focal Dystonias*. *Adv Neurol*, vol. 50: Dystonia 2, New York: Raven Press; 1988. p.517-24.
120. Tomita Y, Schichida K, Takeshita K, Takeshima S. Maturation of blink reflex in children. *Brain Dev* 1989; 11 : 389-93.

121. Trontelj MA, Trontelj JV. Reflex arc of the first component of the human blink reflex: a single motoneuron study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1978; 41 : 538-47.
122. Valls-Solé J, Tolosa ES. Blink reflex excitability cycle in hemifacial spasm. *Neurology* 1989; 39 : 1061-6.
123. Valls-Solé J, Cammarota A, Alvarez R, Hallet M. Orbicularis oculi responses to stimulation of nerve afferents from upper and lower limbs in normal humans. *Brain Res* 1994; 650 : 313-6.
124. Vecchierini-Blineau MF, Guiheneuc P. Maturation of the blink reflex in infants. *Eur Neurol* 1984; 23 : 449-58.
125. Willer JC, Boulu P, Bratzlavsky M. Electrophysiological evidence for crossed oligosynaptic trigemino-facial connections in normal man. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984; 47:87-90.
126. Yates SK, Brown WF. Light-stimulus-evoked blink reflex: Methods, normal values, relation to other blink reflexes and observations in multiple sclerosis. *Neurology* 1981; 31 : 272-81.
127. Zametkin AJ, Stevens JR, Pittman R. Ontogeny of spontaneous blinking and habituation of the blink reflex. *Ann Neurol* 1979; 5 : 452-7.

Stimolazione magnetica transcranica

1. Abbruzzese G, Assini A, Buccolieri A et al. Comparison of intracortical inhibition and facilitation in distal and proximal arm muscles in humans. *J Physiol* 1999; 514:895-903.
2. Abbruzzese G, Trompetto C, Schieppati M. The excitability of the human motor cortex increases during execution and mental imagination of sequential but not repetitive finger movements. *Exp Brain Res* 1996; 111 : 465-72.
3. Abbruzzese G, Trompetto C. Clinical and research methods for evaluating cortical excitability. *J Clin Neurophysiol* 2002; 19(4): 307-21.
4. Abbruzzese G, Marchese R, Buccolieri A et al. Abnormalities of sensorimotor integration in focal dystonia: a transcranial magnetic stimulation study. *Brain* 2001; 124: 537-45.

5. Amassian VE, Cracco RQ, Maccabee PJ, Cracco JB, Rudell A, Eberle L. Suppression of visual perception by magnetic coil stimulation of human occipital cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989; 74: 458-62.
6. Amassian VE, Eberle L, Maccabee PJ, Cracco RQ. Modelling magnetic coil excitation of human cerebral cortex with a peripheral nerve immersed in a brain-shaped volume conductor: the significance of fiber bending in excitation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85 : 291-301.
7. Amassian VE, Stewart M, Quirk GJ et al. Physiological basis of motor effects of a transient stimulus to cerebral cortex. *Neurosurgery* 1987; 20: 74-93.
8. Ammon K, Gandevia SC. Transcranial magnetic stimulation can influence the selection of motor programmes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 705-7.
9. Arturo Leis A, Kofler M, Dobrivoje S Stokic, Grubwieser GJ, Delapasse JS. Effect of the inhibitory phenomenon following magnetic stimulation of cortex on brainstem motor neuron excitability and on the cortical control of brainstem reflexes. *Muscle Nerve* 1993;16:1351-8.
10. Ashby P, Reynolds C, Wennberg R, Lozano AM, Rothwell JC. On the focal nature of inhibition and facilitation in the human motor cortex. *Clin Neurophysiol* 1999; 110: 550-5.
11. Barker AJ, Jalinous R, Freeston IL. Non invasive stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985: ii; 1106-7.
12. Bartholow R. Experimental investigations into the functions of the human brain. *Ann J Med Sci* 1874; 67 : 305-13.
13. Ben-Shachar D, Belmaker RH, Grisaru N, Klein E. Transcranial magnetic stimulation induces alterations in brain monoamines. *J Neural Transm* 1997; 104: 191-7.
14. Berardelli A, Inghilleri M, Gilio F et al. Effects of repetitive cortical stimulation on the silent period evoked by magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 1999; 125: 82-6.
15. Berardelli A, Inghilleri M, Rothwell JC et al. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Exp Brain Res* 1998; 122: 79-84.
16. Berardelli A, Rona S, Inghilleri M et al. Cortical inhibition in Parkinson's disease. A study with paired magnetic stimulation. *Brain* 1996; 119: 71-7.

17. Boroojerdi B, Diefenbach K, Ferbert A. Transcallosal inhibition in cortical and subcortical cerebral vascular lesions. *J Neurol Sci* 1996; 144: 160-70.
18. Boroojerdi B, Prager A, Muellbacher W, Cohen LG. Reduction of human visual cortex excitability using 1 Hz transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 2000; 54: 1529-31.
19. Boyd SG, Rothwell JC, Cowan JM, Webb PJ, Morley T, Asselman P, Marsden CD. A method of monitoring function in corticospinal pathways during scoliosis surgery with a note on motor conduction velocities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986; 49 : 251-57.
20. Brouwer B, Ashby P. Corticospinal projections to upper and lower limb spinal motoneurons in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 76 : 509-19.
21. Brown P, Ridding MC, Werhahn KJ et al. Abnormalities of the balance between inhibition and excitation in the motor cortex of patients with cortical myoclonus. *Brain* 1996; 119: 309-17.
22. Buchman AS, Eisen AA, Hoirch RT et al. Facilitation of cortical motor evoked potentials: evidence for spinal contributions [abstract]. *Muscle Nerve* 1988; 9 : 994-5.
23. Burke D, Hicks RG. Surgical monitoring of motor pathways. *J Clin Neurophysiol* 1998; 15 : 194-205.
24. Cantello R, Gianelli M, Bettucci D et al. Parkinson's disease rigidity: magnetic motor evoked potentials in a small hand muscle. *Neurology* 1991; 41: 1449-56.
25. Cantello R, Gianelli M, Civardi C, Mutani R. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. *Neurology* 1992; 42: 1951-9.
26. Cao Y, D'Olhaberriague L, Vikingstad EM, Levine SR, Welch KM. Pilot study of functional MRI to assess cerebral activation of motor function after poststroke hemiparesis. *Stroke* 1998; 29:112-22.
27. Chen R, Tam A, Butefisch C et al. Intracortical inhibition and facilitation in different representations of the human motor cortex. *J Neurophysiol* 1998; 80: 2870-81.
28. Chen R, Classen J, Gerloff C et al. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1997; 48:1398-403.
29. Chen R, Corwell B, Hallet M. Modulation of motor cortex excitability by median nerve and digit stimulation. *Exp Brain Res* 1999a; 129: 77-86.

30. Chen R, Lozano AM, Ashby P. Mechanism of the silent period following transcranial magnetic stimulation. Evidence from epidural recordings. *Exp Brain Res* 1999b; 128: 539-42.
31. Chen R, Yung D, Li J-Y. Organization of ipsilateral excitatory and inhibitory pathways in the human motor cortex. *J Neurophysiol* 2003; 89: 1256-64.
32. Christie BR, Kerr DS, Abraham WC. Flip side of synaptic plasticity: long-term depression mechanisms in the hippocampus. *Hippocampus* 1994; 4: 127-35.
33. Cicinelli P, Traversa R, Bassi A, et al. Interhemispheric differences of hand muscle representation in human motor cortex. *Muscle Nerve* 1997; 20 : 535-42.
34. Cincotta M, Tozzi, F, Zaccara G, et al. Motor imagery in a locked-in patient: evidence from transcranial magnetic stimulation. *Ital J Neurol Sci* 1999; 20: 37-41.
35. Claus D, Mills KR, Murray NM. Facilitation of muscle responses to magnetic brain stimulation by mechanical stimuli in man. *Exp Brain Res* 1988a; 71:273-8.
36. Claus D, Mills KR, Murray NM. The influence of vibration on the excitability of alpha motoneurons. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1988b; 69 : 431-6.
37. Cohen LG, Hallet M. Methodology for non invasive mapping of human motor cortex with electrical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1988; 69 : 403-11.
38. Daskalakis ZJ, Christensen BK, Chen R et al. Evidence for impaired cortical inhibition in schizophrenia using transcranial magnetic stimulation. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59: 347-54.
39. Datta AK, Harrison L, Stephens JA. Task-dependent changes in the size of response to magnetic brain stimulation in human first dorsal interosseus muscle. *J Physiol* 1989 ; 418 : 13-23.
40. Davey NJ, Romaguere P, Maskill DW et al. Suppression of voluntary motor activity revealed using transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in man. *J Physiol* 1994; 477: 223-35.
41. Day BL, Dressler D, Maertens de Noordhout A, Marsden CD, Nakashima K, Rothwell JC, Thompson PD. Electric and magnetic stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *J Neurophysiol Lond* 1989; 412 : 449-73.

42. Day BL, Rothwell JC, Thompson PD, Dick JP, Cowan JM, Berardelli A, Marsden CD. Motor cortex stimulation in intact man. 2. Multiple descending volleys. *Brain* 1987; 110 : 1191-209.
43. Day BL, Rothwell JC, Thompson PD, Maertens de Noordhout A, Nakashima K, Shannon K, Marsden CD. Delay in the execution of voluntary movement by electrical or magnetic brain stimulation in intact man. *Brain* 1989; 112: 649-663.
44. de Noordhout AM, Rapisarda G, Bogacz D, Gerard P, De Pasqua V, Pennisi G, Delwaide PJ. Corticomotoneuronal synaptic connections in normal man: an electrophysiological study. *Brain* 1999; 122 : 1327-40.
45. Deletis V, Schild JH, Beric A et al. Facilitation of motor evoked potentials by somatosensory afferent stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85:302-10.
46. Deuschl G, Michels R, Berardelli A et al. Effects of electric and magnetic transcranial stimulation on long latency reflexes. *Exp Brain Res* 1991; 83: 403-10.
47. Dhuna AK, Gates JR, Pascual Leone A. Transcranial magnetic stimulation in patients with epilepsy: *Neurology* 1991; 41: 1067-71.
48. Di Lazzaro V, Oliviero A, Berardelli A et al. Direct demonstration of the effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on the excitability of the human motor cortex. *Exp Brain Res* 2002; 144: 549-53.
49. Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Mazzone P, Insola A, Tonali PA, Rothwell JC. The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 255-66.
50. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Effects of voluntary contraction on descending volleys evoked by transcranial electrical stimulation over the motor cortex hand area in conscious humans. *Exp Brain Res* 1999; 124 : 525-8.
51. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Meglio M, Cioni B, Tonali P, Rothwell JC. Descending spinal cord volleys evoked by transcranial magnetic and electrical stimulation of the motor cortex leg area in conscious humans. *J Physiol* 2001b; 537: 1047-58.
52. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Pennisi MA, Di Giovanni S, Zito G, Tonali P, Rothwell JC. Muscarinic receptor blockade has differential effects on the

- excitability of intracortical circuits in the human motor cortex. *Exp Brain Res* 2000; 135(4): 455-61.
53. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Saturno E, Pilato F, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin neurophysiol* 1998a; 109: 397-401.
 54. Di Lazzaro V, Oliviero A, Saturno E, Pilato F, Insola A, Mazzone P, Profice P, Tonali P, Rothwell JC. The effect on corticospinal volleys of reversing the direction of current induced in the motor cortex by transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 2001a; 138: 268-73.
 55. Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali P, Marra C, Daniele A, Profice P, Saturno E, Pilato F, Masullo C, Rothwell JC. Non-invasive in vivo assessment of cholinergic cortical circuits in AD using transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 2002; 59: 392-7.
 56. Di Lazzaro V, Restuccia D, Oliviero A et al. Magnetic transcranial stimulation at intensities below active motor threshold activates intracortical inhibitory circuits. *Exp Brain Res* 1998b; 119: 265-8.
 57. Enomoto H, Ugawa Y, Hanajima R et al. Decreased sensory cortical excitability after 1 Hz rTMS over the ipsilateral primary motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 2154-8.
 58. Ferbert A, Priori A, Rothwell JC et al. Interhemispheric inhibition of the human motor cortex. *J Physiol* 1992; 453: 525-46.
 59. Ferrier D. *The function of the brain*. London: Smith & Elder, 1876.
 60. Filippi MM, Olivieri M, Pasqualetti P et al. Effects of motor imagery on motor cortical output topography in Parkinson's disease. *Neurology* 2001; 57 : 55-61.
 61. Fitzgerald PB, Brown TL, Daskalakis ZJ et al. Intensity-dependent effects of 1 Hz rTMS on human corticospinal excitability. *Clin Neurophysiol* 2002; 113: 1136-41.
 62. Fitzgerald PB, Brown TL, Daskalakis ZJ. The application of transcranial magnetic stimulation in psychiatry and neurosciences research. *Acta Psychiatr Scand* 2002; 105: 324-40.
 63. Flament D, Goldsmith P, Buckley CJ et al. Task-dependence of responses in first dorsal interosseus muscle to magnetic brain stimulation in man. *J Physiol* 1993; 464 : 361-78.

64. Fox P, Ingham R, George MS et al. Imaging human intra-cerebral connectivity by PET during TMS. *Neuroreport* 1997; 8: 2787-91.
65. Fritsch G, Hitzig E. Über die elektrische Erregbarkeit des gro ß hirns. *Arch Anat Physiol (wiss. Med.)* 1870; 37 : 300-32.
66. Fuhr P, Agostino R, Hallet M. Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81: 257-62.
67. Fuhr P, Cohen LG, Dang N et al. Physiological analysis of motor reorganization following lower limb amputation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 53-60.
68. Gerloff C, Cohen LG, Floeter MK et al. Inhibitory influence of the ipsilateral motor cortex on responses to stimulation of the human cortex and pyramidal tract. *J Physiol* 1998; 510: 249-59.
69. Gerschlagner W, Siebner HR, Rothwell JC. Decreased corticospinal excitability after subthreshold 1 Hz rTMS over lateral premotor cortex. *Neurology* 2001; 57: 449-55.
70. Ghabra MB, Hallet M, Wassermann EM. Simultaneous repetitive transcranial magnetic stimulation does not speed fine movement in PD. *Neurology* 1999; 52: 768-70.
71. Gualtierotti T, Paterson AS. Electric stimulation of the unexpected cerebral cortex. *J Physiol* 1954; 125 : 278-91.
72. Gustafsson B, Wigstrom H. Physiological mechanism underlying long-term potentiation. *Trends Neurosci* 1988; 11: 156-62.
73. Hallet M. Physiology of dystonia. *Adv Neurol* 1998; 78: 11-18.
74. Hanajima R, Ugawa Y, Terao Y et al. Paired-pulse magnetic stimulation of the human motor cortex : differences among the I waves. *J Physiol* 1998; 509: 607-18.
75. Hausmann A, Weis C, Marksteiner J et al. Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation enhances c-fos in the parietal cortex and hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 76: 355-62.
76. Hess CW, Mills KR, Murray NMF. Magnetic stimulation of the human brain: facilitation of motor responses by voluntary contraction of ipsilateral and contralateral muscles with additional observations on an amputee. *Neurosci Lett* 1986; 71 : 235-40.

77. Hess CW, Mills KR, Murray NMF. Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. *J Physiol* 1987; 338 : 397-419.
78. Hilgetag CC, Theoret H, Pascual Leone A. Enhanced visual spatial attention ipsilateral to rTMS-induced “virtual lesions” of human parietal cortex. *Nat Neurosci* 2001; 4: 953-7.
79. Hirashima F, Yokota T. Influence of peripheral nerve stimulation on human motor cortical excitability in patients with ventrolateral thalamic lesion. *Arch Neurol* 1997; 54: 619-24.
80. Hufnagel A, Elger CE. Induction of seizures by transcranial magnetic stimulation in epileptic patient. *J Neurol* 1991; 238: 109-10.
81. Inghilleri M, Berardelli A, Cruccu G et al. Silent period evoked by transcranial stimulation of the human cortex and cervicomedullary junction. *J Physiol* 1993; 466: 521-34.
82. Ji RR, Schlaepfer TE, Aizenman CD et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation activates specific regions in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15635-40.
83. Kammer T, Beck S, Thielscher A, Laubis-Herman U, Topka H. Motor thresholds in humans: a transcranial magnetic stimulation study comparing different pulse wave forms, current directions and stimulator types. *Clin Neurophysiol* 2001; 112 : 250-8.
84. Kaneko K, Kawai S, Fuchigami Y, Shiraishi G, Ito T. Intracortical facilitation of the muscle response after transcranial magnetic double stimulation. *Muscle Nerve* 1996; 19: 1043-5.
85. Karp BI, Wassermann EM, Porters S, Hallet M. Transcranial magnetic stimulation acutely decreases motor tics. *Neurology* 1997; 48: A397.
86. Kasai T, Kawai S, Kawanishi M et al. Evidence for facilitation of motor evoked potentials (MEPs) induced by motor imagery. *Brain Res* 1997 ; 744 : 147-50.
87. Keck ME, Sillaber I, Ebner K et al. Acute transcranial magnetic stimulation of frontal brain regions selectively modulates the release of vasopressin, biogenic amines and amino acids in the rat brain. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 3713-20.
88. Kiers L, Fernando B, Tomkins D. Facilitatory effect of thinking about movement on magnetic motor-evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105 :262-8.

89. Kimbrell TA, Little JT, Dunn RT et al. Frequency dependence of antidepressant response to left prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) as a function of baseline cerebral glucose metabolism. *Biol Psychiatry* 1999 ; 46 : 1603-13.
90. Kobayashi M, Pascual Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol* 2003 ; 2 : 145-56.
91. Krjnjovic K, Randic M, Straughan DW. Nature of the cortical inhibitory process. *J Physiol* 1966; 184: 49-77.
92. Kujirai T, Caramia MD, Rothwell JC et al. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol* 1993; 471: 501-19.
93. Liepert J, Classen J, Cohen LG et al. Task-dependent changes of intracortical inhibition. *Exp Brain Res* 1998; 118: 421-6.
94. Liepert J, Schwenkreis P, Tegenthoff M et al. The glutamate antagonist riluzole suppresses intracortical facilitation. *J Neural Transm* 1997; 104: 1207-14.
95. Lorenzano C, Gilio F, Inghilleri M, Conte A, Fofi L, Manfredi M, Berardelli A. Spread of electrical activity at cortical level after repetitive magnetic stimulation in normal subjects. *Exp Brain Res* 2002; 147: 186-92.
96. Maeda F, Keenan JP, Tormos JM et al. Interindividual variability of the modulatory effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cortical excitability. *Exp Brain Res* 2000b; 133: 425-30.
97. Maeda F, Keenan JP, Tormos JM et al. Modulation of corticospinal excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2000a; 111: 800-5.
98. Magistris MR, Rosler KM, Truffert A, Myers JP. Transcranial stimulation excites virtually all motor neurons supplying the target muscle. A demonstration and a method improving the study of motor evoked potentials. *Brain* 1998; 121 : 437-50.
99. Marsden CD, Merton PA, Morton HB. Direct electrical stimulation of corticospinal pathways through the intact scalp in human subjects. *Adv Neurol* 1983; 39 : 387-91.
100. Marshall RS, Perera GM, Lazar RM, Krakauer Jw, Constantine RC, DeLaPaz RL. Evolution of cortical activation during recovery from corticospinal tract infarction. *Stroke* 2000; 31: 656-61.

101. Martin JL, Barbanoj MJ, Perez V, Sacristan M. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of obsessive-compulsive disorder. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (3): CD003387.
102. Martin JL, Barbanoj MJ, Schlaepfer TE et al. Transcranial magnetic stimulation for treating depression. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002; (2): CD003493.
103. Mathis J, de Quervain D, Hess CW. Dependence of the transcranially induced silent period on the 'instruction set' and the individual reaction time. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998 ; 109 : 426-35.
104. McCormick DA. Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex. *J Clin Neurophysiol* 1992; 9: 212-23.
105. Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 1980; 285 : 227.
106. Meyer BU, Roricht S, Woiciechowsky C. Topography of fibers in the human corpus callosum mediating interhemispheric inhibition between the motor cortices. *Ann Neurol* 1998; 43: 360-9.
107. Mills KR, Boniface SJ, Schubert M. Magnetic brain stimulation with a double coil: the importance of coil orientation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85 : 17-21.
108. Modugno N, Nakamura Y, MacKinnon CD et al. Motor cortex excitability following short trains of repetitive magnetic stimuli. *Exp Brain Res* 2001 ; 140: 453-9.
109. Muellbacher W, Ziemann U, Boroojerdi B, Hallett M. Effects of low-frequency transcranial magnetic stimulation on motor excitability and basic motor behaviour. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 1002-7.
110. Munchau A, Bloem BR, Irlbacher K et al. Functional connectivity of human premotor and motor cortex explored with repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neurosci* 2002; 22: 554-61.
111. Münchau A, Bloem BR, Irlbacher K, Trimble MR, Rothwell JC. Functional connectivity of human premotor and motor cortex explored with repetitive transcranial magnetic stimulation. *J Neurosci* 2002; 22: 554-61.
112. Naeser M, Hugo T, Kobayashi M et al. Modulation of cortical areas with repetitive transcranial magnetic stimulation to improve speech in aphasia. *Neuroimage Human Brain Mapping Meeting, 2002:(abstr 133).*

113. Nakamura H, Kitagawa H, Kawaguchi Y, Tsuji H. Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J Physiol* 1997; 498: 817-23.
114. Netz J, Lammers T, Homberg V. Reorganization of motor output in the non-affected hemisphere after stroke. *Brain* 1997;120:1579-86.
115. Olivieri M, Bisiach E, Brighina F et al. rTMS of the unaffected hemisphere transiently reduces contralesional visuospatial hemineglect. *Neurology* 2001; 57:1338-40.
116. Pascual Leone A, Rubio B, Pallardò F, Català MD. Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet* 1996; 348: 233-7.
117. Pascual Leone A, Tormos JM, Keenan J et al. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol* 1998 ; 15 : 333-43.
118. Pascual Leone A, Valls-Solé J, Brasil-Neto JP et al. Akinesia in Parkinson's disease. II: effects of subthreshold repetitive transcranial motor cortex stimulation. *Neurology* 1994b; 44: 892-8.
119. Pascual Leone A, Valls-Solé J, Wassermann EM, Hallet M. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 1994a; 117: 847-58.
120. Pascual-Leone A, Valls-Solé J, Brasil-Neto JP, Cohen LG, Hallet M. Seizure induction and transcranial magnetic stimulation. *Lancet* 1992; 339: 997.
121. Patton HD, Amassian VE. The Pyramidal Tract: its excitation and functions. In: *Handbook of Physiology: Neurophysiology*. Washington DC: American Physiology Society. 1960; sect 1. Vol II. 837-61.
122. Patton HD, Amassian VE. Single and multiple unit analysis of the cortical stage of pyramidal tract activation. *J Neurophysiol* 1954; 17 : 345-63.
123. Paus T, Iech R, Thompson CJ et al. Transcranial magnetic stimulation during positron emission tomography : a new method for studying connectivity of the human cerebral cortex. *J Neurosci* 1997 ; 17 : 3178-84.
124. Peinemann A, Lehner C, Mentschel C et al. Subthreshold 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation of the human primary motor cortex reduces intracortical paired-pulse inhibition. *Neurosci Lett* 2000; 296: 21-4.

125. Penfield W, Jasper HH. Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. Boston: Little Brown. 1954.
126. Porter R, Lemon RN. Corticospinal function and voluntary movement. Oxford: Oxford University Press; 1993.
127. Priori A, Berardelli A, Inghilleri M et al. Electromyographic silent period after transcranial brain stimulation in Huntington's disease. *Mov Disord* 1994b; 9: 178-82.
128. Priori A, Berardelli A, Inghilleri M et al. Motor cortical inhibition and the dopaminergic system. Pharmacological changes in the silent period after transcranial brain stimulation in normal subjects, patients with Parkinson's disease and drug-induced parkinsonism. *Brain* 1994a; 117: 317-23.
129. Ridding MC, Rothwell JC. Afferent input and cortical organisation: a study with magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 1999; 126 : 536-44.
130. Ridding MC, Sheean G, Rothwell JC et al. Changes in the balance between motor cortical excitation and inhibition in focal task-specific dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995a; 59:493-8.
131. Ridding MC, Taylor JL, Rothwell JC. The effect of voluntary contraction on cortico-cortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol* 1995b; 487: 541-8.
132. Robertson EM, Tormos JM, Maeda F, Pascual Leone A. The role of dorsolateral prefrontal cortex during sequence learning is specific for spatial information. *Cereb Cortex* 2001; 11: 628-35.
133. Roick H, von Giesen HJ, Benecke R et al. On the origin of the postexcitatory inhibition seen after transcranial magnetic brain stimulation in awake human subjects. *Exp Brain Res* 1993 ; 94 : 489-98.
134. Romeo S, Gilio F, Pedace F et al. Changes in the cortical silent period after repetitive magnetic stimulation of cortical motor areas. *Exp Brain Res* 2000; 135: 504-10.
135. Romero JR, Anselmi D, Sparing R et al. Subthreshold low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation selectively decreases facilitation in the motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2002 ; 113 : 101-7.
136. Rona S, Berardelli A, Vacca L et al. Alterations of motor cortical inhibition in patients with dystonia. *Mov Disord* 1998; 13: 118-24.

137. Rossi S, Pasqualetti P, Tecchio F, Pauri F, Rossini PM. Corticospinal excitability modulation during mental stimulation of wrist movements in human subjects. *Neurosci Lett* 1998; 243 : 147-51.
138. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, et al. Non invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 91 : 79-92.
139. Rossini PM, Desiato MT, Lavaroni F et al. Brain excitability and long latency muscular arm responses: non-invasive evaluation in healthy and parkinsonian subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81 : 454-65.
140. Rothwell JC, Colebatch J, Britton TC et al. Physiological studies in patients with mirror movements and agenesis of the corpus callosum. *J Physiol* 1991; 438: 34P.
141. Rothwell JC. Techniques and mechanism of action of transcranial stimulation of the human motor cortex. *J Neurosci Methods* 1997; 74 : 113-22.
142. Sastry BR, Goh JW, Auyeung A. Associative induction of post-tetanic and long-term potentiation in CA1 neurons of rat hippocampus. *Science* 1986;232:988-90.
143. Schieppati M, Trompetto C, Abbruzzese G. Selective facilitation of responses to cortical stimulation of proximal and distal arm muscles by precision tasks in man. *J Physiol* 1996; 491 : 551-62.
144. Siebner HR, Mentschel C, Auer C, Conrad B. Repetitive transcranial magnetic stimulation has a beneficial effect on bradykinesia in Parkinson's disease. *Neuroreport* 1999a; 10: 589-94.
145. Siebner HR, Tormos JM, Ceballos-Baumann AO et al. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in writer's cramp. *Neurology* 1999b; 52: 529-37.
146. Siebner HR, Willoch F, Peller M et al. Imaging brain activation induced by long trains of repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neuroreport* 1998;9:943-8.
147. Stedman A, Davey NJ, Ellaway PH. Facilitation of human first dorsal interosseus muscle responses to transcranial magnetic stimulation during voluntary contraction of the contralateral homonymous muscle. *Muscle Nerve* 1998; 2 : 1033-9.

148. Strafella AP, Paus T. Cerebral blood-flow changes induced by paired-pulse transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex. *J Neurophysiol* 2001b; 85: 2624-9.
149. Strafella PA, Paus T, Barrett J, Dagher A. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the human prefrontal cortex induces dopamine release in the caudate nucleus. *J Neurosci* 2001a; 21: RC157.
150. Strafella PA, Paus T, Fraraccio M, Dagher A. Striatal dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 2003; 126: 2609-15.
151. Terao Y, Ugawa Y. Basic mechanisms of TMS. *J Clin Neurophysiol* 2002; 19(4): 322-43.
152. Tergau F, Naumann U, Paulus W, Steinhoff BJ. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves intractable epilepsy. *Lancet* 1999; 353: 2209.
153. Tergau F, Wanshura V, Canelo M et al. Complete suppression of voluntary motor drive during the silent period after transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 1999; 124: 447-54.
154. Theoret H, Haque J, Pascual Leone A. Increased variability of paced finger tapping accuracy following repetitive magnetic stimulation of the cerebellum in humans. *Neurosci Lett* 2001; 306: 29-32.
155. Thompson PD, Day BL, Rothwell JC, Dick JP, Cowan JM, Asselman P, Griffin GB, Sheehy MP, Marsden CD. The interpretation of electromyographic responses to electrical stimulation of the motor cortex in disease of the upper motorneuron. *J Neurol Sci* 1987; 80 : 91-110.
156. Thompson SM, Gähwiler BH. Effects of the GABA uptake inhibitor tiagabine on inhibitory synaptic potentials in rat hippocampal slice cultures. *J Neurophysiol* 1992; 67: 1698-701.
157. Tokimura H, Di Lazzaro V, Tokimura Y et al. Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. *J Physiol* 2000; 523: 503-13.
158. Tokimura H, Ridding MC, Tokimura Y et al. Short latency facilitation between pairs of threshold magnetic stimuli applied to human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 101: 263-72.

159. Touge T, Gerschlager W, Brown P, Rothwell JC. Are the after-effects of low-frequency rTMS on motor cortex excitability due to changes in the efficacy of cortical synapses? *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 2138-45.
160. Tremblay F, Tremblay LE, Colcer DE. Modulation of corticospinal excitability during imagined knee movements. *J Rehabil Med* 2001; 33 : 230-4.
161. Triggs WJ, Cros D, Macdonell RA et al. Cortical and spinal motor excitability during the transcranial magnetic stimulation silent period in humans. *Brain Res* 1993; 628: 39-48.
162. Trompetto C, Buccolieri A, Abbruzzese G. Intracortical inhibitory circuits and sensory input: a study with transcranial magnetic stimulation in humans. *Neurosci Lett* 2001a; 297: 17-20.
163. Trompetto C, Buccolieri A, Marinelli L et al. Differential modulation of motor evoked potential and silent period by activation of intracortical inhibitory circuits. *Clin Neurophysiol* 2001b; 112: 1822-7.
164. Ugawa Y, Terao Y, Hanajima R et al. Magnetic stimulation over the cerebellum in patients with ataxia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 104: 453-8.
165. Ugawa Y, Uesaka Y, Terao Y et al. Magnetic stimulation over the cerebellum in humans. *Ann Neurol* 1995; 37: 703-13.
166. Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Wassermann EM et al. Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 355-64.
167. von Giesen HJ, Roick H, Benecke R. Inhibitory actions of motor cortex following unilateral brain lesions as studied by magnetic brain stimulation. *Exp Brain Res* 1994; 99: 84-96.
168. Wassermann EM, Fuhr P, Cohen LG et al. Effect of transcranial magnetic stimulation on ipsilateral muscles. *Neurology* 1991; 41: 1795-9.
169. Wassermann EM, Pascual-Leone A, Valls-Solé J et al. Topography of the inhibitory and excitatory responses to transcranial magnetic stimulation in a hand muscle. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993; 89: 424-33.
170. Wassermann EM, Samii A, Mercuri B et al. Responses to paired transcranial magnetic stimuli in resting, active and recently activated muscles. *Exp Brain Res* 1996; 109: 158-63.
171. Wassermann EM. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: reported and suggested guidelines from the International Workshop on the

- Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation. June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 108: 1-16.
172. Wedegaertner FR, Garvey MA, Cohen LG et al. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation can reduce action myoclonus. *Neurology* 1997; 48: A119.
 173. Werhahn KJ, Fong JK, Meyer BU, Priori A, Rothwell JC, Day BL, Thompson PD. The effect of magnetic coil orientation on the latency of surface EMG in single motor unit responses in the first dorsal interosseus muscle. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 93 : 138-46.
 174. Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J. Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 1999; 517: 591-7.
 175. Werhahn KJ, Taylor J, Ridding M, Meyer BU, Rothwell JC. Effect of transcranial magnetic stimulation over the cerebellum on the excitability of human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 101: 58-66.
 176. Wilson SA, Lockwood RJ, Thickbroom GW, Mastaglia FL. The muscle silent period following transcranial magnetic cortical stimulation. *J Neurol Sci* 1993; 114: 216-22.
 177. Ziemann U, Chen R, Cohen LG et al. Dextromethorphan decreases the excitability of the human motor cortex. *Neurology* 1998a; 51: 1320-4.
 178. Ziemann U, Lonnecker S, Paulus W. Inhibition of human motor cortex by ethanol. A transcranial magnetic stimulation study. *Brain* 1995; 118 : 1437-46.
 179. Ziemann U, Lonnecker S, Steinhoff BJ et al. Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study. *Ann Neurol* 1996a; 40 : 367-78.
 180. Ziemann U, Lonnecker S, Steinhoff BJ et al. The effect of lorazepam on the motor cortical excitability in man. *Exp Brain Res* 1996b; 109 : 127-35.
 181. Ziemann U, Netz J, Szelenyi A et al. Spinal and supraspinal mechanisms contribute to the silent period in the contracting soleus muscle after transcranial magnetic stimulation of human motor cortex. *Neurosci Lett* 1993; 156: 167-71.
 182. Ziemann U, Paulus W, Rothenberger A. Decreased motor inhibition in Tourette's disorder: evidence from transcranial magnetic stimulation. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 1277-84.

183. Ziemann U, Rothwell JC, Ridding MC. Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J Physiol* 1996c; 496: 873-81.
184. Ziemann U, Steinhoff BJ, Tergau F et al. Transcranial magnetic stimulation: its current role in epilepsy research. *Epilepsy Res* 1998b; 30 : 11-30.
185. Ziemann U, Tergau F, Wassermann EM et al. Demonstration of facilitatory I wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation. *J Physiol* 1998c; 511: 181-90.