Effetto degli approcci manuali con modalità osteopatica sui correlati cerebrali dell'interocezione: uno studio in fMRI

Effect of manual approaches with osteopathic modality on brain correlates of interoception: an fMRI study

Link all'articolo originale: https://www.nature.com/articles/s41598-020-60253-6

Traduzione a cura di: Silvia Clara Tuscano

Autori:

Francesco Cerritelli 1,2,3, Piero Chiacchiaretta 1,2, Francesco Gambi1,2,*
Mauro Gianni Perrucci1,2, Giovanni Barassi4, Christian Visciano4, Rosa Grazia Bellomo5, Raoul Saggini4 & Antonio Ferretti1,2

1Dipartimento di Neuroscienze, Imaging e Scienze cliniche, "G. D'Annunzio "Università di Chieti-Pescara, Chieti, Italia. 2 ITAB- Istituto per le Tecnologie Biomediche Avanzate, "G. D'Annunzio "Università di Chieti-Pescara, Chieti, Italia. 3 Dipartimento di ricerca umana a base clinica - COME Collaboration ONLUS, Pescara, Italia. 4 Dipartimento di Scienze mediche orali e biotecnologiche, Università "Gabriele d'Annunzio", Chieti-Pescara, Italia. 5 Dipartimento di Scienze biomolecolari, Università "Carlo Bo", Urbino, Italia. * email: p.chiacchiaretta@unich.it

Giornale: Giornale: Nature Research Scientific Reports

Abstract:

Il presente studio randomizzato controllato con placebo ha esplorato la misura in cui il trattamento manipolativo osteopatico (OMT) influisce sull'attività cerebrale, in particolare sull'insula, sia durante una mansione di "consapevolezza interocettiva" che di "consapevolezza esterocettiva" in un campione di 32 adulti destrimani con lombalgia cronica (CLBP, *chronic Low Back Pain*) randomizzati casualmente nel gruppo OMT o nel gruppo della simulazione (*sham*). I pazienti hanno ricevuto 4 sessioni settimanali e la fMRI è stata eseguita al momento dell'arruolamento (TO), immediatamente dopo la prima sessione (T1) e a 1 mese di distanza (T2). I risultati hanno rivelato che l'OMT ha prodotto una riduzione distinta e specifica della risposta BOLD in specifiche aree del cervello correlate all'interocezione, ovvero, bilateralmente l'insula, l'ACC, lo striato sinistro e l'rMFG. La tendenza osservata nei tre punti temporali appare insolita. In T1, è stato osservato un aumento marginale della risposta BOLD in tutte le aree sopra menzionate ad eccezione dell'rMFG, che ha mostrato una diminuzione della risposta BOLD. In T2, la risposta è stata opposta: le aree correlate all'interocezione (insula bilaterale e ACC), nonché l'rMFG e lo striato sinistro hanno mostrato una riduzione significativa della risposta BOLD. I risultati di questo studio forniscono una panoramica relativa agli effetti delle terapie manuali sull'attività cerebrale e presentano implicazioni importanti per le

future ricerche nel settore.

Articolo

L’interazione tra il senso del tatto e il corpo è un processo ben riconosciuto che avviene a diversi livelli neurali, con svariati effetti e meccanismi d’azione. Nel cervello, l’effetto di quest’interazione produce diverse rappresentazioni o esperienze mentali – chiamate anche sentimenti – relative al corpo1. Vi sono inclusi gli input provenienti dall’ambiente fisiologico del corpo, ovvero le condizioni metaboliche, strutturali e funzionali in un dato momento, un concetto che prende il nome di interocezione2. Questi sentimenti possono essere modulati da diversi stimoli e fonti, incluso il tatto, e ciò in ultima analisi modifica la percezione del mondo interno ed esterno3.

Numerosi studi neurobiologici hanno ipotizzato che l’insula (INS) sia un nodo di cruciale importanza per l’integrazione interocettiva multimodale che partecipa ai processi interocettivi, come la consapevolezza dei sentimenti del corpo4, ma anche ad elementi esterocettivi, come la percezione del dolore 5,6, del gusto7–10, degli odori11 e del tatto12. In effetti, gli stimoli esterni, cioè il dolore, gli odori o i sapori, costituiscono segnali mappati sul corpo, nel cosiddetto spazio peripersonale [ovvero lo spazio immediatamente circostante al corpo]13,14. Inoltre, nell’insula anteriore, le informazioni esterocettive e interocettive si sovrappongono ai domini emozionali11, suggerendo una sottostante comunanza15. In effetti, talvolta l’insula viene definita come un punto d’incontro tra l’ambiente esterno e quello interno16-19. Revisioni dettagliate riguardo alle evidenze sull’interocezione sono disponibili altrove2,3,20.

I metodi per misurare le differenze interocettive comprendono l’uso di questionari e test comportamentali, che possono sfruttare le fluttuazioni naturali dei segnali fisiologici interni oppure manipolare sperimentalmente la fisiologia degli organi21,22. Per motivi pratici, la rilevazione del battito cardiaco è una misura ampiamente utilizzata per valutare le differenze tra gli individui riguardo alla capacità e all’accuratezza dell’interocezione 23–25. Questi test quantificano la capacità di un individuo di distinguere il proprio battito cardiaco a riposo, contando, picchiettando o valutando il ritmo del battito cardiaco rispetto a uno stimolo esterno. Per loro natura, queste mansioni possono essere utilizzate nel contesto di uno studio fMRI con buona validità e affidabilità26.

La lombalgia (LBP) è un problema sanitario diffuso, nonché una delle principali cause di disabilità in tutto il mondo27,28. Le stime di prevalenza dell’LBP nel corso della vita variano dal 60% al 70%27. In Europa, l’LBP rappresenta la seconda causa di morbilità, misurata tramite l’attesa di vita corretta per disabilità28. Le evidenze scientifiche suggeriscono che diverse aree del cervello vengono modificate dopo l’esposizione alla lombalgia cronica (CLBP), generalmente definita come dolore che si protrae per più di 3 mesi29. In effetti, questi cambiamenti sembrano essere correlati ai cambiamenti nella INS anteriore e nella corteccia cingolata anteriore (ACC, *Anterior Cingulate Cortex*)30. Altri studi hanno evidenziato la predominanza della corteccia prefrontale mediale (mPFC, *medial prefrontal cortex*) come regolatore chiave della percezione del dolore31. Apkarian *et al.* hanno dimostrato che modellando l’attività dell’mPFC e dell’INS è possibile quantificare l’entità e la durata della rachialgia con un errore del 20%31. Inoltre, altre ricerche hanno mostrato che i soggetti con dolore cronico sono caratterizzati da una funzione anormale delle reti nello stato di riposo con un’attivazione più elevata dell’INS e dell’ACC32–34, oltre che dell’mPFC33. Nel loro insieme, questi studi sembrano indicare un ruolo cruciale dell’INS e dell’ACC nella modulazione del dolore.

La ricerca preliminare nel campo delle terapie manuali come l'osteopatia suggerisce che l'interocezione, mediata dal senso del tatto, può svolgere un ruolo importante nei loro effetti terapeutici35-37. Il tatto è riconosciuto sia come modalità esterocettiva che interocettiva, laddove quest'ultima sembra essere fornita da fibre tattili di tipo C, amieliniche, di piccolo calibro e a conduzione lenta (fibre CT), che viaggiano lungo la lamina I del tratto spinotalamocorticale per sostenere l'omeostasi e creare la base per i sentimenti2. I ricercatori hanno ipotizzato l'esistenza di un omuncolo 'affettivo' nell'insula, il quale mappa le proprietà edoniche del tocco gentile, in base al desumibile aumento della densità di innervazione delle fibre CT nei siti corporei più prossimali38. A questo proposito, le fibre CT potrebbero essere la componente neurobiologica cruciale nelle terapie manuali basate sul tocco, e costituire la base dei meccanismi osservati38.

Sebbene tale argomento non sia stato ancora formalmente studiato, alla luce dell'attuale letteratura sulle neuroscienze si può sostenere la plausibilità del legame tra l'interocezione e gli effetti osservati della terapia manuale, in particolare dell'osteopatia. La nostra ipotesi, quindi, è che la terapia basata sul tocco possa influire sull'attività neurale quando il soggetto è impegnato a percepire il battito cardiaco. In questo studio, abbiamo studiato l'effetto di un trattamento osteopatico sui correlati cerebrali, in particolare sulle reti collegate all'insula, in pazienti affetti da CLBP.

Risultati

Descrizione del campione alla linea di base. Trentadue pazienti destrimani sono stati randomizzati e divisi nel gruppo di studio (N = 16) e nel gruppo di controllo (N = 16). Tre pazienti (1 del gruppo di studio e 2 del gruppo di controllo) si sono ritirati durante lo studio, per cui la dimensione definitiva del campione è stata di 29 pazienti. Alla linea di base non sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i gruppi in termini di età, sesso, BMI, situazione coniugale e qualifiche accademiche e professionali (Tabella 1). Per quanto concerne le misurazioni del dolore, i gruppi erano confrontabili per i livelli di dolore misurati dai punteggi della scala VAS e McGill e per l'indice di disabilità misurati dai questionari Roland-Morris e Oswestry (Tabella 1).

Risultati comportamentali. Considerando l'errore medio per l'IA, i risultati dell'analisi MVM hanno mostrato un effetto di interazione gruppo × tempo ($F = 6,78$; $p < 0,01$) ma non un effetto gruppo ($F = 4,98$; $p = 0,12$).

In effetti, non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i gruppi al valore della linea di base (OMT: 3.5 ± 0.50 vs 3.4 ± 1.1 del gruppo *sham*; t = 0.33, df = 20.95, P = 0.74, a due code) (Fig. 1). Differenze statisticamente significative sono state rilevate in T1 (OMT: 2.2 ± 0.7 vs *sham* 3.2 ± 1.2; t = −2.88, df = 24.15, valore p <0.001) e in T2 (OMT: 1.94 ± 0.63 vs *sham* 3.0 ± 0.96; t = −3.69, df = 25.90, valore p <0.001). Inoltre, nel gruppo OMT è stata osservata una riduzione significativa rispetto alla linea di base sia in T1 (media delle differenze: 1,30; IC al 95%: 0,86–1,74; t = 6.04; df = 27.15; p < 0.001) che in T2 (media delle differenze: 1.53; 95% CI: 1.15–1.97; t = 7.76, df = 28.53, valore p <0.001). L'analisi della mansione EA non ha rivelato differenze tra gruppi e tempo. Nessuno dei 14 pazienti assegnati al gruppo *sham* è stato in grado di indovinare correttamente la natura del trattamento.

Risultati fMRI. Per studiare la relazione tra IA, OMT e attività cerebrale nell'insula e in altre aree intercettive correlate, è stato applicato un paradigma fMRI ormai consolidato39 che include mansioni

IA ed EA. Gli effetti della difficoltà delle mansioni sulla consapevolezza interocettiva ed esterocettiva (IA ed EA) sono stati esclusi dimostrando l'assenza di differenze significative tra l'errore medio totale nella condizione IA (media: 3,43 ± 0,6) ed EA (media: 2,28 ± 0,53) (t = 1,43, df = 470,63, valore p = 0,15).

In primo luogo, le mappe di attivazione di gruppo in T0 hanno mostrato una significativa attivazione dell'insula bilaterale, della corteccia cingolata bilaterale, della corteccia bilaterale sensomotoria e della corteccia prefrontale mediale per quanto concerne la mansione IA, e del giro temporale superiore bilaterale, della corteccia bilaterale sensomotoria per quanto concerne la mansione EA (Fig 2). Alla linea di base, non sono state riscontrate differenze tra il gruppo OMT e SHAM nell'attivazione delle aree interocettive ed esterocettive. Questi risultati confermano che i due gruppi erano equilibrati per quanto riguarda le mansioni interocettive ed esterocettive. Per ciò che riguarda l'analisi delle ROI per la mansione IA, si è notato un effetto significativo del gruppo (OMT < SHAM) nella corteccia cingolata anteriore destra (ACC, $F = 10.81$; $p < 0.001$), corteccia insulare destra (rINS, $F = 10.12$; $p < 0.001$), corteccia insulare sinistra (lINS, $F = 9.96$; $p < 0.001$), striato sinistro ($F = 11.42$; $p < 0.001$) e giro frontale mediano destro (rMFG, $F = 7.12$; $p < 0.001$) (Fig. 3). Effetti significativi sono stati rilevati anche per il tempo (ACC: $F = 8.67$, $p < 0.001$; rINS: $F = 8.98$, $p < 0.001$; lINS: $F = 9.11$, $p < 0.001$;striato sinistro: $F = 7.67$, $p < 0.001$; rMFG: $F = 8.42$, $p < 0.001$) e anche nell'interazione gruppo × tempo (ACC: $F = 10.21$, $p < 0.001$; rINS: $F = 10.43$, $p < 0.001$; lINS: $F = 10.01$, $p < 0.001$; striato sinistro: $F = 11.67$, $p < 0.001$; rMFG: $F = 10.11$, $p < 0.001$).

Confrontando i due gruppi, il gruppo OMT ha mostrato una riduzione significativa dei valori beta nell'ACC ($t = -4.07$, $p < 0.001$), rINS ($t = -3.87$, $p < 0.001$), lINS ($t = -3.16$, $p < 0.001$), striato sinistro ($t = -4.97$, $p < 0.001$) e rMFG ($t = -3.45$, $p < 0.001$) soprattutto in T2 (Fig. 4). È interessante notare che solo l'rMFG ha mostrato una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi in T1 ($t = -2,65$, $p< 0,01$).

Il confronto dei punti temporali all'interno del gruppo ha mostrato differenze statisticamente significative solo per il gruppo OMT. In generale, è stata osservata una differenza significativa tra i valori beta T2 e T0 per ACC (T2 vs T0: $t = -2.97$, $p<0.01$), lINS (T2 vs T0: $t=-2.47$, p0.01), rINS (T2 vs T0: $t=-2.35$, p0.01), striato sinistro (T2 vs T0: $t=-3.34$, p0.01) e rMFG (T2 vs T0: $t=-2.54$, p0.01).

In relazione alla mansione EA, i gruppi OMT e *sham* sono risultati comparabili, senza differenze significative rilevate nell'attivazione cerebrale.

Discussione

Il presente studio ha dimostrato che il trattamento manipolativo osteopatico produce una risposta BOLD distinta e specifica in aree specifiche correlate all'interocezione. Rispetto al gruppo *sham*, i pazienti che ricevono l'OMT mostrano questi effetti specificamente nelle aree rINS, LINS, ACC, nello striato sinistro e nell'rMFG. L'andamento rispetto ai 3 punti temporali sembra essere insolito. Infatti, immediatamente dopo la prima sessione dell'OMT, è stato mostrato un aumento marginale della risposta BOLD in tutte le aree sopra menzionate, ma non nell'rMFG, che ha presentato una diminuzione. In T2, la risposta sembrava essere opposta: le aree correlate all'interocezione (insula

bilaterale e ACC), così come l'rMFG e lo striato sinistro davano una risposta BOLD significativamente ridotta, ovvero questi cluster hanno mostrato una chiara modulazione dopo 4 sessioni di OMT. Ciò è particolarmente osservabile nel gruppo OMT rispetto agli altri punti temporali (T0 e T1) e al gruppo sham.

Inoltre, considerando gli errori medi relativi alla mansione IA, i risultati hanno mostrato che in T2 il gruppo OMT ha ridotto il numero di errori rispetto alla linea di base e rispetto al gruppo *sham*. Ciò potrebbe suggerire che i partecipanti al gruppo OMT hanno migliorato le loro competenze nella mansione di tracciamento del battito cardiaco, una misura della precisione interocettiva. È interessante notare che la possibilità di assuefazione alla mansione e quindi di una prevedibilità del tracciamento del battito cardiaco veniva controllata tramite la randomizzazione della mansione (sia tra IA-EA che all'interno della sequenza della mansione assegnata). Inoltre, sembra improbabile che i pazienti che eseguivano l'attività IA alla linea di base, ovvero i 4 blocchi di 15 secondi ciascuno (un minuto in totale), potessero essersi adattati e addestrati per svolgere tale mansione, influenzando quindi le prestazioni a un mese di distanza. Ciò è confermato dal fatto che gli errori medi nel gruppo *sham* erano simili in T0 e in T2. Considerando quanto sopra, potrebbe essere possibile che l'uso delle procedure OMT possa migliorare la percezione del battito cardiaco, consentendo ai pazienti di rilevare con maggiore precisione il proprio battito cardiaco. È ben noto in letteratura che per percepire il proprio battito cardiaco è necessario attivare la rete della salienza26,40,41. Si può sostenere che una rete più efficiente significhi una migliore capacità di eseguire l'attività IA e quindi di sentire con maggiore accuratezza il battito del proprio cuore42. Pertanto, potremmo ipotizzare che l'uso dell'OMT potrebbe produrre effetti specifici nelle aree cerebrali interocettive, forse riflettendo un'aumentata efficienza nel decodificare gli stimoli cardiaci interocettivi dal basso verso l'alto (*bottom-up*).

Oltre all'attivazione delle aree della salienza, anche l'attivazione dell'rMFG sembra mostrare un modello simile. È interessante notare che, secondo l'ipotesi della "interruzione di circuito" proposta da Corbetta43, l'MFG destro sarebbe responsabile della modulazione dell'attenzione esogena ed endogena. Japee e colleghi hanno rivelato che l'rMFG potrebbe svolgere un ruolo importante nel riorientare l'attenzione dal controllo esogeno a quello endogeno44. Considerando i risultati del presente studio, siamo indotti a sostenere che l'uso dell'OMT possa influire sull'attività dell'rMFG consentendo un controllo dell'attenzione più preciso al fine di riorientare in modo più efficiente la propria attenzione verso gli stimoli endogeni. Sebbene non sia ancora stato formalmente dimostrato, possiamo ipotizzare che l'uso dell'OMT potrebbe agire sull'rMFG facilitando la commutazione dall'ambiente esterno verso l'ambiente interno. Questo in ultima analisi avrebbe un impatto sull'accuratezza della percezione all'interno del corpo.

Il presente studio ha alcune limitazioni che è importante sottolineare. Sebbene l'analisi qui presentata sia basata su una logica specifica rigorosa, dovrebbe essere considerata come un primo passo che verrà integrato da ulteriori ricerche basate su approcci più complessi finalizzati a valutare, per esempio, la connettività funzionale ed efficace durante i paradigmi di riposo e di attività. Ad esempio, l'analisi della teoria dei grafi (GTA)45,46 può fornire metriche utili sia per i profili di connettività che per l'efficienza a livello della rete, consentendo ai ricercatori di esaminare l'efficienza dei singoli nodi nell'integrare i segnali a livello globale e locale. Precedenti ricerche basate sulla GTA hanno dimostrato che la rete cerebrale è strutturata secondo una topologia del "piccolo mondo", caratterizzata da fitte connessioni intra-modulari e relativamente poche connessioni inter-modulari 45–47. Nel contesto del presente studio, la GTA potrebbe essere utile per analizzare le singole reti cerebrali durante lo stato di riposo post-osteopatico. Ciò fornirà evidenze dirette sul fatto che lo stato

di riposo post-trattamento contiene effetti correlati all'osteopatia, forse dovuti alla natura specifica dell'osteopatia basata sul tocco.

Inoltre, è possibile studiare la connettività funzionale efficace (definita come l'influenza che un'area esercita su un'altra) durante le attività utilizzando la modellizzazione causale dinamica (*Dynamic Causal Modeling*)48. Questo ci condurrà a studiare le interazioni tra le più importanti regioni coinvolte nell'esterocezione/propriocezione rispetto all'interocezione, analizzando l'effettiva connettività tra le regioni cerebrali.

Lo studio delle terapie manuali dal punto di vista delle neuroscienze potrebbe condurre a nuove intuizioni in un campo di ricerca ancora inesplorato. Nonostante l'ampio uso di diversi approcci manuali e di interventi basati sul tocco49, la ricerca sull'attività cerebrale è ancora scarsa. Le neuroscienze possono fornire diverse metodologie che consentono ai ricercatori di decodificare modelli caratteristici, sia durante i trattamenti manuali che nell'intervallo di tempo tra trattamenti successivi. Oltre a ciò, è essenziale progettare studi ecologicamente rilevanti. A tale proposito, selezionare i campioni appropriati è un prerequisito necessario, così come è indispensabile usare una logica robusta. Troppo spesso, gli studi nel contesto delle terapie manuali non sono sufficientemente dettagliati, compromettendo significativamente la validità, l'affidabilità e l'applicabilità clinica della ricerca.

La presente ricerca ha studiato l'effetto dell'OMT sui correlati cerebrali, in particolare sulle reti basate sull'insula, in pazienti affetti da CLBP. I risultati dello studio, in particolare i cambiamenti osservati nella corteccia insulare e nel suo ruolo interocettivo associato, supportano l'ipotesi precedentemente proposta da D'Alessandro e collaboratori, secondo i quali la terapia manuale potrebbe sfruttare un paradigma interocettivo che potrebbe spiegare alcuni degli effetti clinici dei trattamenti manuali35. Pertanto, siamo indotti ad affermare che la presente ricerca, associata a evicenze basate sul contesto clinico, può fornire lumi riguardo agli effetti delle terapie manuali sull'attività cerebrale e avere implicazioni per le ricerche future in questo campo.

Metodi

Il presente studio randomizzato controllato con placebo è stato progettato per studiare la misura in cui l'OMT può cambiare l'attività nell'insula e quindi nel suo circuito anteriore, rispettivamente durante una mansione di "consapevolezza interocettiva" e di "consapevolezza esterocettiva" in un campione di pazienti affetti da CLBP.

Popolazione. I pazienti sono stati reclutati presso una clinica ambulatoriale di un centro di riabilitazione neurologica e ortopedica dell'Università di Chieti (CUMFER). Interventi, valutazioni e raccolta e analisi dei dati sono stati condotti nello stesso sito dove si è svolto lo studio. Sono stati invitati a partecipare alla sperimentazione i pazienti adulti (≥18 anni e ≤60 anni) che il medico curante o lo specialista inviavano all'ambulatorio dove si è svolto lo studio affinché si sottoponessero al trattamento per lombalgia non specifica cronica (CLBP). Nel caso in cui non fossero stati inviati da un medico, per esempio se avevano risposto all'invito pubblicato sulla stampa locale, i pazienti venivano visitati da uno specialista ortopedico indipendente nel sito dove si è svolto lo studio per

verificare l'idoneità e confermare la diagnosi (CLBP). I sintomi dovevano includere qualsiasi dolore o disturbo cronico (> 3 mesi) localizzato al di sotto del margine costale e al di sopra delle pieghe glutee inferiori, con o senza irradiazione del dolore agli arti inferiori50. Il consenso scritto e informato è stato ottenuto prima dell'inizio di qualsiasi procedura relativa allo studio.

Nel caso fosse soddisfatto uno qualsiasi dei seguenti criteri il paziente veniva escluso51: segno clinico di danno neurologico con menomazioni sensomotorie (p. es. sindrome radicolare, paresi o formicolio agli arti); patologia spinale sospetta o confermata (p. es. tumore, infezione, frattura o malattia infiammatoria); anamnesi di chirurgia spinale (p. es. scompenso o irrigidimento); infortunio da colpo di frusta negli ultimi 12mesi; dolore cervicale con riduzione del movimento attivo a meno di 30° di rotazione su ciascun lato; patologie vestibolari note; importanti interventi chirurgici programmati durante il periodo di svolgimento dello studio; fisioterapia durante le ultime 12 settimane; incapacità di seguire le procedure dello studio – p. es. a causa di problemi linguistici, disturbi psicologici/psichiatrici, demenza e partecipazione parallela a un altro studio. All'arruolamento, i pazienti idonei sono stati valutati da un medico con esperienza, al fine di confermare la diagnosi ed escludere la malattia psichiatrica e/o qualsiasi altro requisito di esclusione.

Le procedure sono state approvate dal comitato etico locale (Università di Chieti-Pescara numero: 7/09-04-15) e sono conformi alla Dichiarazione di Helsinki. Il protocollo (i materiali supplementari forniscono i dettagli del protocollo) è stato registrato su clinictrial.gov (ID: NCT02464475 in data 8 giugno 2015). Nessun dato è stato registrato prima che il partecipante sottoscrivesse il consenso informato in forma scritta per la partecipazione e la pubblicazione.

Randomizzazione e mascheramento. I pazienti eleggibili sono stati divisi casualmente in due gruppi usando un rapporto 1:1 e sono stati assegnati al gruppo OMT o al gruppo *sham*. È stata effettuata una randomizzazione a blocchi in base a un elenco randomizzato generato dal computer, con dimensione del blocco pari a 10. Tutti i pazienti, assegnati utilizzando buste sigillate, non erano a conoscenza di nessuna fase del progetto dello studio, né dei risultati o dell'allocazione al gruppo. L'elenco di randomizzazione è stato archiviato in uno spazio web dedicato e protetto ed è stato nominato un consulente IT responsabile dell'intero processo. Il personale di ricerca è stato tenuto all'oscuro dell'elenco di randomizzazione e dell'allocazione dei pazienti per la durata dello studio. Inoltre, non conosceva l'allocazione dei pazienti, dal momento che tutti i pazienti ricevano un intervento basato sul tocco da parte dell'operatore. Solo l'operatore osteopata era a conoscenza dell'allocazione dei pazienti. Inoltre, l'operatore che somministrava l'OMT non aveva alcun ruolo nelle decisioni relative alla terapia dei pazienti. I ricercatori che gestivano l'apparecchio fMRI e i dati fRMI non erano a conoscenza dell'allocazione dei pazienti.

Valutazione comportamentale prima della scansione. Al tempo T0, prima della scansione fMRI, ai pazienti è stato chiesto di compilare i questionari su supporto cartaceo. È stato somministrato un questionario socio-demografico per raccogliere i dati alla linea di base in termini di genere, BMI, età, titolo accademico, stato civile, tabagismo e tipo di lavoro. Inoltre, l'Edinburgh Handedness Inventory è stato usato per studiare la mano dominante (Oldfield, 1971) mentre si è usato lo State-Trait Anxiety Inventory (STAI-Y1 e Y2) per valutare l'ansia di tratto52.

Il Body Awareness Questionnaire (BAQ) è considerato uno strumento affidabile e valido per misurare

l'attenzione riferita dal paziente verso i suoi stessi processi corporei 53,54. È composto da 18 affermazioni che misurano le convinzioni sulla propria sensibilità alle normali funzioni corporee (non emotive e non patologiche) e sulla capacità di anticipare le reazioni corporee. A ciascuna affermazione viene data una risposta in base a un modello di scala Likert a sette punti. Il coefficiente alfa di Cronbach per il BAQ è risultato pari a 0,80 per il campione italiano.

Valutazione del dolore prima della scansione. Diversi strumenti sono stati specificamente utilizzati per valutare la percezione del dolore nei pazienti. Il questionario Roland–Morris sulla disabilità misura lo stato di salute e valuta la disabilità del paziente affetto da lombalgia. Il questionario è composto da 24 domande a cui bisogna rispondere sì o no e ha buone proprietà psicometriche, evidenziate dalla coerenza interna e reattività55. Il questionario Oswestry sulla disabilità lombare (OSW) esplora la disabilità derivata dalla lombalgia. Il questionario è composto da 10 voci che affrontano diversi aspetti del funzionamento (p. es. intensità del dolore, funzionamento fisico, funzionamento del sonno, funzionamento sociale). L'affidabilità, le discriminazioni e le validità costruttive dell'OSW sono buone56. Il McGill Pain Questionnaire (MPQ) è uno strumento ampiamente utilizzato per valutare le caratteristiche del dolore, con riferimento alle sue qualità sensoriali e affettive57,58. L'MPQ è composto da 15 affermazioni che descrivono la sensazione di dolore (11 sensoriali e 4 affettive) che il paziente deve auto-valutare in base al livello di intensità in base a una scala Likert 0–3. L'affidabilità e la validità di queste misure sono buone e ben documentate59.

Progettazione sperimentale e descrizione del paradigma. Tutti i pazienti idonei sono stati randomizzati in un gruppo di studio (OMT) e in un gruppo di controllo (*sham*). Il gruppo di studio è stato sottoposto a quattro sessioni settimanali di OMT di 30 minuti ciascuna. L'osteopatia è una medicina manuale non farmacologica, non invasiva, considerata da alcuni come medicina complementare e alternativa (CAM). Gli operatori osteopati applicano una serie di tecniche manuali per migliorare la funzione corporea alterata da qualsiasi disfunzione somatica (struttura del corpo) (codice ICD-10: M99.0– 99.9)60. Nella pratica osteopatica vi sono due elementi essenziali: una valutazione strutturale per la diagnosi e una serie di diverse tecniche manipolative per il trattamento. Lo scopo della valutazione strutturale è individuare la presenza di disfunzioni somatiche specifiche. I criteri diagnostici per le disfunzioni somatiche si concentrano sul tono e sulle possibili anomalie della struttura tissutale. Vengono inoltre valutate le aree di asimmetria e disallineamento dei punti di repere ossei, oltre alla qualità del movimento, l'equilibrio e l'organizzazione. Il termine OMT comprende attualmente > 20 tipi di trattamenti manuali somministrati dagli osteopati61.

Nel presente studio il trattamento è stato somministrato da un osteopata registrato e autorizzato. Le tecniche utilizzate in questo studio sono state: tecniche di bilanciamento delle tensioni legamentose, tecniche di bilanciamento delle tensioni membranose e tecniche dei fluidi, in linea con i principi e le procedure consultabili nell'attuale letteratura osteopatica. In breve, queste tecniche sono classificate come approcci indiretti62 e usano un tocco leggero e delicato38 per correggere la disfunzione somatica applicando il modello del punto di massima libertà (punto di bilanciamento) di Sutherland62. Tutte le sessioni di trattamento hanno avuto luogo nel CUMFER.

Il gruppo di controllo ha ricevuto un trattamento fittizio (*sham*), cioè è stato sottoposto a sessioni durante le quali non veniva somministrato alcun tipo di tecnica o procedura osteopatica. In particolare, l'operatore effettuava una valutazione manuale di tipo osteopatico senza prestare attenzione alle aree corporee con disfunzioni somatiche. Dopo la valutazione, l'operatore invitava il

paziente a sdraiarsi sul lettino e appoggiava delicatamente le mani su un numero predefinito di aree anatomiche senza applicare alcun tipo di tecnica ma semplicemente usando un leggero tocco statico o dinamico. Le parti specificate nel protocollo erano: rachide lombare, osso sacro, bacino, diaframma, torace superiore, rachide cervicale e cranio. La sequenza da applicare durante la sessione veniva decisa dall'operatore prima della sessione. Questa procedura era mirata a prevenire ogni possibile eventualità che consentisse al paziente di indovinare l'allocazione di gruppo. Le sessioni duravano 30 minuti, come per l'OMT, si svolgevano nello stesso ambiente/stanza e venivano somministrate dallo stesso operatore. Questo per evitare possibili contaminazioni e *bias* di allocazione.

Durante il periodo di studio, a tutti i pazienti è stato chiesto di evitare, se possibile, qualsiasi forma di trattamento medico.

Il periodo di studio è stato organizzato come segue, con sessioni di fMRI in tre punti temporali principali (Fig. 5):

1. Linea di base (T0): prima del trattamento.
2. Risposta acuta (T1): immediatamente dopo la prima sessione di trattamento manuale.
3. Risposta cronica (T2): alla fine del periodo di studio (dopo un mese), che includeva quattro sessioni di trattamento.

Dopo la valutazione clinica (arruolamento) e in T2, ai pazienti è stato chiesto di compilare i questionari su supporto cartaceo.

Descrizione del paradigma. Il progetto della fMRI utilizzata per valutare i correlati cerebrali della consapevolezza interocettiva ed esterorecettiva è stato derivato da ricerche precedenti, in cui è stato testato con successo39,63-65. Nello specifico, abbiamo utilizzato un progetto a blocchi con 3 condizioni:

- monitoraggio del battito cardiaco per la consapevolezza interocettiva (IA)
- monitoraggio uditivo per consapevolezza esterocettiva (EA).
- periodo di riposo (periodo di fissazione) in cui ai soggetti veniva richiesto di non formulare nessun pensiero o azione strutturata.

Al fine di limitare i processi cognitivi diversi dall'interocezione o dall'esterocezione, sono stati utilizzati semplici stimoli visivi per indicare il tipo di mansione. Questi segnali visivi sono stati proiettati tramite un proiettore LCD su uno schermo visibile attraverso uno specchio montato sulla *headcoil* e consistevano in simboli descritti come segue (Fig. 6):

1. Cuore, ovvero tracciamento del battito cardiaco per consapevolezza interocettiva – IA.
2. Chiave di violino, ovvero monitoraggio uditivo per consapevolezza esterocettiva – EA.
3. Croce scura, ovvero periodo di riposo (periodo di fissazione) in cui ai soggetti veniva richiesto di non formulare nessun pensiero o azione strutturata.

Per la mansione 1, è stato presentato un cuore di colore scuro su sfondo chiaro. Finché questo simbolo restava visibile sullo schermo, ai partecipanti è stato chiesto di contare silenziosamente il proprio battito cardiaco (una versione modificata dell'attività di tracciamento del battito cardiaco originale di Schandry66). I soggetti sono stati invitati a respirare normalmente e non è stata consentita alcuna forma di strategia di supporto (p. es. prendersi il battito del polso). Inoltre, i partecipanti sono stati incoraggiati a considerare solo i battiti cardiaci di cui erano convinti, tuttavia anche consigliati a prestare attenzione ai sentimenti deboli.

Per la mansione 2, sullo stesso sfondo chiaro veniva presentato il simbolo di una chiave di violino di colore scuro, con le stesse dimensioni del simbolo del cuore. Durante questa mansione le persone dovevano contare silenziosamente il numero di toni riprodotti attraverso cuffie compatibili con fMRI (sistema audio NordicNeuroLab).

Ogni segnale veniva mostrato sullo schermo in una sequenza di blocchi, ciascuno della durata di 15 secondi, durante i quali il soggetto doveva svolgere la relativa mansione. Quattro blocchi per ogni attività sono stati alternati in modo pseudorandomizzato con i periodi di riposo.

Alla fine di ogni blocco di attività, il paziente doveva comunicare il numero di battiti cardiaci o di toni che aveva contato, utilizzando un mouse a due pulsanti compatibile con fMRI. I 2 pulsanti, sinistro e destro, venivano utilizzati per controllare le unità e i decimali, consentendo ai soggetti di comunicare rapidamente il proprio conteggio. In particolare, il pulsante sinistro serviva per passare dai decimali alle unità e viceversa, mentre il pulsante destro veniva utilizzato per selezionare le cifre corrispondenti. Il tempo concesso per comunicare il numero conteggiato era di 10 secondi. I periodi di fissazione venivano indicati da una croce scura (della stessa dimensione e colore dei simboli per l'IA e l'EA) su uno sfondo chiaro. Ai partecipanti veniva chiesto di rilassarsi e minimizzare qualsiasi impegno cognitivo durante questi periodi. Per evitare eventuali effetti di assuefazione, il volume del tono musicale veniva regolato prima dell'inizio della sessione di fMRI, mentre il soggetto era in decubito. La durata totale della sessione era pari a 335 secondi. La sessione veniva ripetuta due volte e l'ordine degli stimoli veniva modificato in modo casuale.

L'erogazione dei segnali visivi era controllata da un software scritto in Matlab. Gli stimoli visivi venivano proiettati tramite un proiettore LCD su uno schermo visibile attraverso uno specchio montato sulla *headcoil*. Immediatamente prima della scansione, i partecipanti svolgevano una sessione di prova durante la quale ricevevano istruzioni dettagliate e si esercitavano per familiarizzarsi con le mansioni.

Acquisizione dei dati della fMRI. Le immagini sono state acquisite con uno scanner Philips Achieva 3 Tesla (Philips Medical Systems, Best, Paesi Bassi) che utilizza una bobina a radiofrequenza su tutto il corpo per l'eccitazione del segnale e una bobina di testa phased-array a 8 canali per la ricezione del segnale. Inizialmente veniva acquisito un volume strutturale ad alta risoluzione utilizzando una sequenza 3D con eco a campo veloce ponderata per T1 (sagittale, matrice 256 × 256, FOV = 256 mm, spessore della sezione = 1 mm, nessun gap, dimensione del voxel nel piano = 1 × 1 mm, angolo di inversione = 12°, TR = 9,7 ms e TE = 4 ms). Quindi, si ottenevano i dati fMRI dipendenti dal livello di ossigeno nel sangue (BOLD, Blood Oxygen Level Dependent) utilizzando una sequenza eco-planare (EPI) con eco-gradiente ponderato per T2∗ (matrice 80 × 80, dimensioni voxel 3mm × 3mm ×

3.5mm, SENSE 1.8, TE=30ms, TR=1.8 secondi, 185 volumi per analisi). Durante la risonanza magnetica venivano anche acquisiti i segnali fisiologici a 100 Hz, utilizzando un pulsossimetro posizionato su un dito della mano sinistra e una cintura pneumatica legata intorno all'addome superiore. Tutti i dati sono stati archiviati e protetti presso il Dipartimento di Neuroscienze dell'Università di Chieti-Pescara.

Pre-elaborazione dei dati fMRI. L'analisi dei dati fMRI è stata eseguita con l'ausilio di AFNI. I primi cinque volumi di ciascuna sessione funzionale sono stati scartati a causa degli effetti della saturazione in T1. Durante la preelaborazione, i picchi di segnale transitori sono stati rimossi dalla serie temporale EPI "3dDespike" di AFNI ed è stata eseguita la correzione del tempo di scansione della sezione. La correzione del movimento è stata effettuata mediante l'allineamento delle immagini EPI al sesto volume della prima sessione. Infine, le scansioni funzionali pre-elaborate sono state co-registrate con il corrispondente insieme di dati strutturati, normalizzate nello spazio MNI, levigate spazialmente (6 mm FWHM) e filtrate passa-banda (cut-off 0,013 Hz).

Analisi statistica. *Calcolo delle dimensioni del campione*. La letteratura fMRI (p. es. il confronto dei valori di connettività tra popolazioni diverse come in Greicius *et al*.67) riporta che le stime sulle previste dimensioni dell'effetto sono relativamente alte (d di Cohen = 1,01). Questa dimensione dell'effetto, insieme a un valore alfa di 0,05 e un Beta di 0,80 tipico degli studi di neuroimaging68 sono stati inseriti nel programma statistico R per stimare la dimensione del campione, ottenendo N = 16 soggetti per gruppo, valori compatibili con quelli proposti in questo studia.

Dati comportamentali. Per indicare le caratteristiche generali della popolazione in studio abbiamo utilizzato le medie aritmetiche e le deviazioni standard, nonché la mediana, la percentuale e il range. Per confrontare il gruppo OMT e il gruppo *sham* al momento dell'arruolamento, sono stati effettuati i test statistici univariati, il *t* test di Student e il test del chi quadrato. Per studiare l'effetto indipendente dell'OMT sugli *endpoint* primari e secondari, è stata effettuata un'analisi a misure ripetute, basata su un modello lineare a effetti misti, considerando le differenze di gruppo (OMT vs *sham*) nel tempo (linea di base rispetto alle sessioni sperimentali) e nelle condizioni (interocettiva vs esterocettiva). Per indicare la differenza statistica, sono stati considerati valori di P a due code inferiori a 0,05. La soglia di significatività è stata ulteriormente adeguata ai confronti multipli utilizzando la correzione di Bonferroni. Questa analisi dei dati è stata effettuata utilizzando il programma statistico R (v. 3.5.2). Nessuno dei pazienti inclusi ha riportato alcun evento avverso.

Dati fMRI. Innanzitutto, sono state ottenute mappe di attivazione statistica per singoli soggetti utilizzando il modello lineare generale (GLM), considerando il cuore e le condizioni del suono come fattori predittivi di interesse, mentre i periodi corrispondenti alla risposta del soggetto sia per il cuore che per il suono sono stati inclusi nel modello come predittori di nessun interesse. È stata utilizzata una funzione di risposta emodinamica standard a due funzioni gamma per tenere conto del ritardo emodinamico. Questa analisi è stata eseguita al fine di identificare le aree cerebrali in cui il segnale BOLD aumentava/diminuiva durante l'esecuzione delle mansioni cardiache (IA) e sonore (EA). Quindi, i singoli valori beta corrispondenti alle due mansioni sono stati usati come input in un'analisi di gruppo basata sull'approccio di modellizzazione multivariata (MVM) come implementato in AFNI (programma 3dMVM), per valutare gli effetti del trattamento sull'attivazione cerebrale. L'approccio MVM offre una maggiore flessibilità rispetto ai tradizionali AN(C)OVA e GLM, con schemi di correzione

del livello di voxel in caso di violazione dell'assunzione di sfericità69.

In particolare il modello includeva due gruppi (OMT vs *sham*), 3 punti temporali (T0, T1, T2) e 2 condizioni (IA vs EA). Quindi, si è usato un disegno fattoriale2 × 3 × 2 in cui il gruppo è stato considerato una variabile tra i gruppi, mentre il tempo e le mansioni erano usati come fattori all'interno del gruppo.

Innanzitutto, sono stati valutati i principali confronti paragonando T0_IA e T0_EA a riposo (raggruppando i due gruppi) allo scopo di cercare le aree attivate a livello di gruppo dalle mansioni IA ed EA. Sono stati inoltre eseguiti i confronti tra i gruppi paragonando OMT_T0_IA vs *sham*_T0_IA e OMT_T0_EA vs *sham*_T0_EA, per verificare che i due gruppi fossero bilanciati rispetto al livello di attivazione durante le due mansioni in T0. Successivamente sono stati effettuati i confronti OMT_(T2-T1-T0) _IA vs *sham*_(T2-T1-T0)_IA e OMT_(T2-T1-T0)_EA vs *sham*_(T2-T1-T0)_EA allo scopo di rilevare le aree che mostravano un effetto significativo.

Per le mappe statistiche ottenute da questi confronti è stata imposta una soglia di $p < 0,05$, corretta per confronti multipli. La correzione per confronti multipli è stata eseguita utilizzando il *false discovery rate* (FDR). Infine, per quantificare i cambiamenti di attivazione tra gruppi, tempi e mansioni, è stata eseguita un'analisi della regione di interesse (ROI, *region of interest*). Per evitare problemi di *double dipping*70, le ROI sono state definite usando coordinate indipendenti estratte dalla letteratura71–76. Sono state considerate ROI sferiche con un raggio di 9 mm per le seguenti aree: insula sinistra (−36,20,4), insula destra (32,18,4), corteccia cingolata (8,16,36), striato (−24, 0,8), giro frontale medio destro (56,8,38).

Ulteriori informazioni

Ringraziamenti
Gli autori ringraziano sinceramente la dott.ssa Rita Santacroce, la dott.ssa Giovanna Bubbico, la dott.ssa Valentina Panara per il loro sostegno durante la ricerca. Non sono stati ricevuti fondi a sostegno di questo studio.

Bibliografia

Allegati

- Tabella 1
- Figura 6
- Figura 5
- Figura 4
- Figura 3
- Figura 2
- Figura-1

Diritti e autorizzazioni
Accesso aperto Questo articolo è concesso in licenza in base alla licenza internazionale Attribution 4.0 di Creative Commons, che consente l'uso, la condivisione, l'adattamento, la distribuzione e la riproduzione in qualsiasi supporto o formato, purché si dia credito adeguato all'autore o agli autori originali e alla fonte, fornire un collegamento alla licenza Creative Commons e indicare se sono state apportate modifiche. Le immagini o il materiale di terze parti utilizzati in questo articolo sono coperti dalla licenza Creative Commons dell'articolo, a meno che non diversamente indicato nelle attribuzioni per il materiale. Se il materiale non è coperto dalla licenza Creative Commons dell'articolo e l'uso previsto non è consentito dalla normativa o supera l'uso consentito, sarà necessario ottenere l'autorizzazione direttamente dal titolare del copyright. Per visualizzare una copia di questa licenza, si prega di visitare http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.