

Ecomiografia funzionale: analisi di spessori, ecostruttura, contrazione e perfusione del muscolo normale e denervato

Riccardo Zanato (1), Leonora Martino (1), Ugo Carraro (2,3), Helmut Kern (4), Elena Rossato (5), Stefano Masiero (2,5), Roberto Stramare (1,2)

(1) Department of Diagnostics and Special Therapy, University of Padova, Italy; (2) Interdepartmental Research Center of Myology, University of Padova, Italy; (3) Laboratory of Translational Myology, Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Italy; (4) Ludwig Boltzmann Institute of Electrical Stimulation and Physical Rehabilitation, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Wilhelminenspital Wien, Austria; (5) Department of Special Medical and Surgical Therapies, University of Padova, Italy

Abstract

Functional Echomyography: thickness, ecogenicity, contraction and perfusion of the LMN denervated human muscle before and during h-bFES

Permanent denervated muscles were evaluated by ultrasound to monitor changes in morphology, thickness, contraction-relaxation kinetics and perfusion due to the electrical stimulation program of the Rise2-Italy project. In a case of monolateral lesion, morphology and ultrasonographic structure of the denervated muscles changed during the period of stimulation from a pattern typical of complete denervation-induced muscle atrophy to a pattern which might be considered "normal" when detected in an old patient. Thickness improved significantly more in the middle third of the denervated muscle, reaching the same value as the contralateral innervated muscle. Contraction-relaxation kinetics, measured by recording the muscle movements during electrical stimulation, showed an abnormal behavior of the chronically denervated muscle during the relaxation phase, which resulted to be significantly longer than in normal muscle. The long-term denervated muscles analyzed with Echo Doppler showed at rest a low resistance arterial flow that became pulsed during and after electrical stimulation. As expected, the ultra sound measured electrical stimulation-induced hyperemia lasted longer than the stimulation period. The higher than normal energy of the delivered electrical stimuli of the Vienna home-based Functional Electrical Stimulation strategy (h-b FES) demonstrate that the explored muscles were still almost completely denervated during the one-year of training. In conclusion, this pilot study confirms the usefulness of Functional Echomyography in the follow-up and the positive effects of h-b FES of denervated muscles.

Key Words: Ultra sound, Functional Echomyography, skeletal muscle, lower motor neuron denervation, h-b FES

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

Riassunto Lo studio pilota descritto si propone di seguire nel tempo soggetti affetti da atrofia muscolare in seguito al danno permanente dei motoneuroni spinali e di diversi nervi periferici, valutando ecograficamente lo spessore, l'ecostruttura, la cinetica di contrazione e rilasciamento e la perfusione di muscoli sottoposti al programma di stimolazione elettrica funzionale domiciliare (h-b FES) del Progetto Rise2-Italy coordinato dal Centro di Ricerca Interdipartimentale di Miologia (cirMYO) dell'Università di Padova.

In un paziente affetto da lesione unilaterale del nervo femorale, il muscolo Tibiale Anteriore (TA) è stato sottoposto a 3 valutazioni ecomiografiche, la prima a novembre 2008, la seconda ad aprile 2009 e la terza a settembre 2009, in cui sono state acquisite scansioni trasversali e longitudinali dei muscoli denervati e dei contro laterali innervati. E' stato eseguito l'eco-Doppler delle arterie perforanti e sono stati registrati i filmati della contrazione-rilasciamento indotta dalla stimolazione elettrica. Lo studio è organizzato in base

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

ai tre campi esplorabili mediante l'ecografia: 1. spessori ed ecostruttura, 2. contrazione, 3. perfusione.

In questo studio preliminare mostriamo che spessore, ecostruttura, cinetica di contrazione/rilasciamento e modalità di perfusione dei muscoli sono ripetibilmente valutabili e che possono essere utilizzati come parametri di monitoraggio del h-b FES training.

L'ecomiografia funzionale è dunque una tecnica elettiva per il monitoraggio dei muscoli denervati, sia permanentemente, sia nell'attesa della reinnervazione, dato che la strumentazione è facilmente reperibile e le analisi sono economiche e non invasive.

Introduzione

L'esame ecografico ha rivoluzionato l'approccio diagnostico nello studio dell'apparato osteo-articolare, ovviamente completato, se necessario, dall'impiego della tomografia computerizzata (TC) e della risonanza magnetica [3,6,14,17,19,20,24,25,28]. Con la sua continua evoluzione tecnologica, si trova oggi in una posizione di primo piano anche per quello che concerne l'apparato muscolare, in particolare l'analisi di numerosi distretti tendinei [14,16,24,25]. La metodica ultrasonografica offre vantaggi non indifferenti quali la non invasività, che consente plurimi monitoraggi, la facilità di approccio, fondamentale spesso negli esami comparativi, e soprattutto la dinamicità, che è una peculiarità dell'ecomiografia funzionale o dinamica [4,23,28].

La possibilità di visualizzare in tempo reale e di registrare il movimento muscolare permette la misurazione dei tempi di contrazione-rilasciamento muscolare. La capacità dell'ecografia di raccogliere informazioni con uno strumento ormai ampiamente utilizzato in clinica (in neuropatologia ha completato l'analisi strumentale derivata dai classici studi di fisiologia ed elettrofisiologia neuromuscolare), potrà trovare un'importante utilizzazione per personalizzare e ottimizzare le fisioterapie con stimolazione elettrica, in particolare nei più difficili casi delle lesioni motorie complete e permanenti [8-12,21]. In questi casi all'inizio del trattamento si possono al più ottenere "scosse" muscolari molto deboli, che in molti casi producono eventi contrattili di difficile osservazione, anche in risposta a stimolazioni elettriche "massimali". In queste fasi iniziali, in cui non sempre le contrazioni muscolari indotte dalla FES sono palpabili o osservabili, l'esame ecomiografico potrà rivelarsi utile per documentare le "scosse" indotte dalla stimolazione elettrica e determinare la migliore posizione degli elettrodi al fine di generare la stimolazione più efficiente e selettiva.

Prove che l'ultrasonografia quantitativa del tessuto muscolare è un metodo affidabile si stanno accumulando nella letteratura scientifica [1,2,19]. Un buon esempio è uno studio nella distrofia muscolare del cane Golden Retriever, dove esiste un'alta correlazione tra fibrosi muscolare ed ecogenicità, che

fa dell'ecomiografia un metodo sensibile e semplice per determinare la gravità e i cambiamenti della struttura muscolare [18].

Tecniche ultrasonografiche funzionali per valutare la perfusione muscolare sono ormai validate da qualche tempo, ma richiedono l'iniezione di mezzi di contrasto (CEUS), le tecniche di Risonanza Magnetica RM sono state affinate per valutare quantitativamente variabili fisiopatologiche del microcircolo muscolare *in vivo* e offrono pertanto utili strumenti diagnostici per le malattie muscolari [26]. Mentre la sensibilità e ripetibilità sono superiori a quelle dell'Ultrasonografia standard, CEUS è una tecnica invasiva, la RM è costosa, non può fornire una completa informazione sulla dinamica muscolare e non può essere eseguita frequentemente, né al letto del paziente. Per l'analisi della perfusione muscolare stiamo esplorando le potenzialità dell'ultrasonografia muscolare non-invasiva, poco costosa e ripetibile frequentemente, facendo tesoro delle metodiche di monitoraggio anatomico e funzionale di arterie e vene dell'angiologia clinica.

Materiali e Metodi

Quando si esamina un muscolo, la scelta del trasduttore appropriato dipende da vari fattori, tra cui lo spessore muscolare complessivo, la sua posizione rispetto alla superficie cutanea (profonda o superficiale) e la consistenza dei tessuti sottocutanei. Le sonde ritenute oggi più idonee allo studio dell'apparato muscolo-scheletrico sono di tipo lineare con frequenze variabili dai 7.5 ai 10 Mhz. L'impiego di trasduttori superiori ai 10 Mhz sicuramente fornisce un'ottimale definizione delle strutture molto superficiali, quali possono essere tendini e nervi in sede periarticolare, ma peraltro, se impiegate singolarmente, possono creare problemi dovuti al campo di visualizzazione molto ristretto. In alcune circostanze particolari, possono essere utilizzati trasduttori di frequenza medio-bassa, come ad esempio nello studio delle malattie neuromuscolari, nelle quali la notevole impedenza acustica del fascio ultrasonoro in profondità, limitato dall'iperecogenità del tessuto connettivo muscolare, a contenuto prevalentemente adiposo e fibrotico, non consente un idoneo studio dei tessuti più profondi. Un altro vastissimo campo di applicazione dell'ecografia è lo studio dell'apparato vascolare arterioso e venoso. L'avanzamento tecnologico offre sempre nuove potenzialità, quali l'impiego delle ricostruzioni tridimensionali [6] o l'effettuazione di sezioni di tessuto panoramiche, che permettono di rappresentare in un'unica immagine muscoli lunghi o larghi in modo tale da misurare lesioni intramuscolari ampie [6].

Le strutture muscolari e tendinee, costituite prevalentemente da fasci fibrillari ad andamento parallelo, esaltano le potenzialità diagnostiche dei trasduttori di tipo lineare. L'approccio con trasduttori

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

di questo tipo, consente un'incidenza perpendicolare del fascio acustico, che determina una corretta rappresentazione delle strutture anatomiche esaminate. L'impiego di trasduttori di tipo settoriale o convex, se non in casi molto selezionati, è poco corretto, a causa della divergenza del fascio acustico in profondità, che determina pericolose deformazioni dell'immagine anatomica.

I piani di scansione sono quello sagittale e quello assiale, possibilmente eseguiti comparativamente all'arto controlaterale, per utilizzare un quadro di confronto. Le scansioni devono essere ottimizzate con una incidenza del fascio perpendicolare alla superficie da esaminare: tuttavia in relazione all'esperienza del singolo operatore, possiamo sfruttare le ampie possibilità di angolazione e di incidenza del trasduttore sulla cute, onde verificare la reale presenza di un processo patologico o meno. Queste manovre sono spesso potenziate dall'impiego di scansioni dinamiche con contrazioni attive e passive del muscolo o movimenti in stress di strutture articolari, che consentono una migliore valutazione di eventuali piccole lesioni non facilmente dimostrabili con un esame statico.

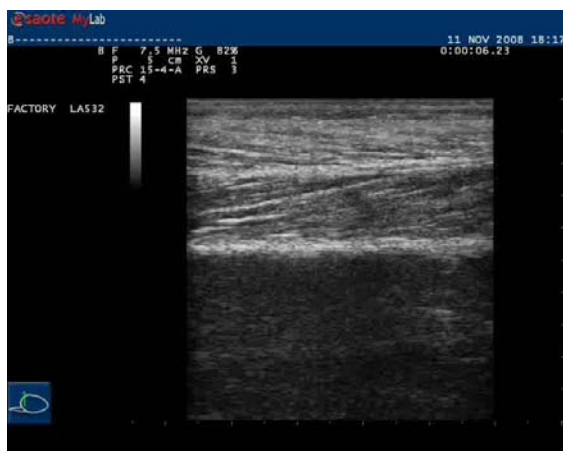
Le dimensioni muscolari possono essere facilmente valutate con la scansione di sezioni trasversali, con cui si possono facilmente individuare i muscoli ipotrofici e ipertrofici. Durante queste misurazioni, è necessario evitare di esercitare qualsiasi pressione che possa alterare l'accuratezza della misurazione e del confronto con il muscolo contro laterale [19]. In conclusione, l'ecografia può essere considerata una valida alternativa alla risonanza magnetica per la valutazione delle sezioni trasversali e degli spessori muscolari, ed è in grado di fornire informazioni sul loro cambiamento in risposta al disuso e all'allenamento [20]. *Ecostruttura.* Il primo momento dell'esame ecografico di un muscolo è basato sulla sua identificazione, sia con scansioni statiche, sia con lo studio dinamico in tempo reale. Ciò presuppone la conoscenza della sua esatta posizione anatomica e delle sue prestazioni funzionali. È consigliabile iniziare con scansioni assiali, esplorando dal terzo medio del muscolo, seguendone poi i confini sia dal punto di vista craniale che caudale, al fine di isolarlo dai muscoli circostanti.

Il muscolo presenta un'ecostruttura relativamente ordinata, "a denti di pettine", per la regolare alternanza dei fasci terziari (le strutture muscolari più piccole evidenziabili con l'indagine ecografica), relativamente ipoecogeni, e dei setti fibroadiposi del perimio, a elevata ecogenicità [9,17]. I tendini e le aponeurosi intramuscolari appaiono come bande iperecogene, valutabili più precisamente con immagini sul piano trasversale del muscolo. Il rapporto tra gli elementi ipoecogene e iperecogene riflette la proporzione tra il tessuto connettivo e i fasci muscolari; è variabile e differisce tra i vari muscoli, per esempio, il tricipite brachiale è meno ecogeno del bicipite brachiale

[24,25]. Nelle scansioni dell'asse corto, la parte carnosa appare con piccoli punti iperecogeni, che rappresentano i setti fibroadiposi, dispersi in un fondo ipoecogeno costituito dai fascicoli muscolari. Sul piano longitudinale, i setti fibroadiposi sono visualizzati come linee dritte, grossolanamente parallele, intervallate dalle linee ipoecogene dei fasci terziari [19]. È fondamentale rilevare che tale aspetto è ottenibile squisitamente se la sonda è mantenuta rigorosamente perpendicolare al piano muscolare in esame; se il fascio ultrasonoro incide obliquamente alla direzione dei fasci muscolari, si otterranno delle aree molto ipoecogene, che possono determinare erronee interpretazioni con eventi patologici muscolari [14]. Questo artefatto è legato all'anisotropia, che è la proprietà di alcune sostanze di variare la loro capacità di riflessione secondo l'angolo d'incidenza dell'onda. La struttura ordinata dei fasci e dei setti fibroadiposi rende i muscoli delle strutture anisotrope, particolarmente quando sono indagate per piani trasversali. I setti intramuscolari stessi, possono simulare cicatrici fibrose, se presi d'infilata su piani iperecogeni. Per la capacità di rilevare la disposizione dei setti fibroadiposi e dei tendini/aponeurosi interni al parenchima muscolare, l'ecomiografia è in grado di riconoscere la struttura interna, distinguere tra muscoli nastriformi, fusiformi e pennati. La fascia muscolare esterna, l'epimio, appare come una guaina iperecogena ben delimitata, che circonda il muscolo ipoecogeno. Nei muscoli complessi, la fascia di rivestimento aiuta l'esaminatore a riconoscere ciascun capo muscolare. L'interstizio tra le fasce giustapposte di due muscoli adiacenti appare come una banda ipoecogena che corrisponde a un tessuto connettivo, svincolato da legami con i muscoli, che rappresenta il piano di clivaggio su cui scorrono i muscoli durante le loro fasi di contrazione e di rilassamento. Interruzioni focali della fascia si trovano nei punti in cui nervi, vene e arterie (vasi perforanti) entrano nel muscolo.

Il tendine appare ecograficamente come un'immagine nastriforme, che presenta all'interno media e omogenea ecogenicità, delimitata da due linee iperecogene sottili, che costituiscono il peritenonio: i fasci di fibre collagene riproducono fini bande longitudinali parallele, alternativamente iper e ipoecogene, ad aspetto lievemente ondulato, che si distanziano se il tendine è lasso e si fanno più compatte se il tendine è stirato [14]. A tale proposito è bene distinguere le strutture di tendini di ancoraggio quali appunto il tendine di Achille, il tendine quadricipitale e il rotuleo, e i tendini di scorrimento quali i tendini estensori e flessori del polso e del piede; i primi sono costituiti squisitamente dal peritenonio, i secondi sono avvolti da una fascia più superficiale che costituisce la guaina sinoviale. All'interno, fra la guaina e il peritenonio, scorre un sottile strato di sinovia, che serve da lubrificante. In condizioni fisiologiche, i tendini di scorrimento e di ancoraggio non sono

Tibiale anteriore sinistro innervato



Tibiale anteriore destro denervato

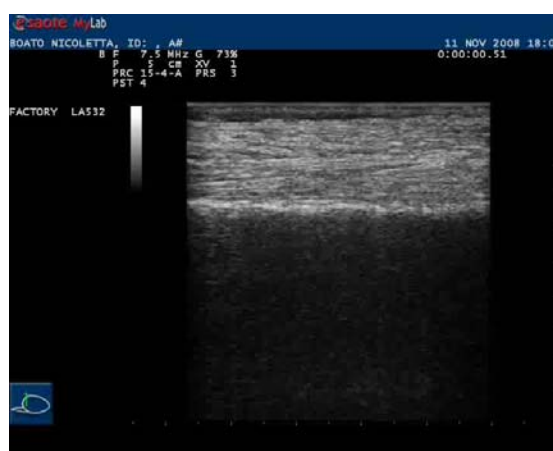


Fig. 1 Videoclip dei muscoli TA di un paziente con lesione unilaterale del nervo sciatico destro da quasi un anno. Il TA innervato (pannello A) presenta un più ampio spessore e una ben riconoscibile struttura pennata rispetto al TA denervato (pannello B), che ha uno spessore ridotto ed una ecogenicità diffusa in conseguenza dell'atrofia dei fascicoli di fibre muscolari denervati. Le diverse modalità di contrazione, in particolare il più lento rilasciamento, si apprezzano osservando i due videoclip, che possono essere visionati ai links: [TA sinistro innervato](#) e [TA destro denervato](#), rispettivamente.

differenziabili gli uni dagli altri. Una corretta valutazione del tendine, soprattutto ai fini della sua omogenea ecogenicità, impone che lo studio ecografico sia eseguito con tendine in massima estensione, tale da non costituire zone ipoecogene riferibili ad artefatti. I tendini, al pari delle strutture muscolari, vanno studiati con scansioni sia sagittali sia assiali, lungo il loro decorso e alle inserzioni. Spesso è dirimente l'esame comparativo e con scansioni dinamiche.

Contrazione. I muscoli, che contraendosi determinano il movimento delle parti alle quali prendono attacco, contribuiscono largamente a determinare non solo la conformazione esterna del corpo, ma anche le sue modificazioni, in relazione con i diversi movimenti e atteggiamenti. L'indagine ecografica dei muscoli non può pertanto prescindere dallo studio della loro dinamica, che è analizzata facendo compiere al paziente contrazioni muscolari sia volontarie sia indotte da elettrostimolazione. È possibile controllare l'integrità dell'epimisio e dei fasci muscolari terziari sotto sforzo ed apprezzare anomali scorrimenti dei piani di clivaggio tra i muscoli e le strutture adiacenti, quali ossa, vasi e masse patologiche.

Nei piani trasversali, il muscolo contratto appare generalmente ispessito e più ipoecogeno a causa dell'aumentato diametro dei fasci muscolari; nei piani sagittali, soprattutto per quanto riguarda i muscoli pennati, i setti intramuscolari cambiano il loro orientamento per l'azione delle fibre muscolari; nel muscolo gastrocnemio mediale, ad esempio, il

“l'angolo di pennazione” aumenta da 15,5° a riposo, a 33,6° durante una contrazione sostenuta [16].

Perfusione. Le tecniche color- e power-doppler consentono di valutare la distribuzione e il flusso vascolare nei muscoli e nei tendini. In questo studio, ci siamo inizialmente limitati a un'analisi qualitativa dello spettro delle arterie al polo vascolare dei muscoli, acquisito in modalità eco-doppler. Lo spettro Doppler contiene le seguenti informazioni sul flusso sanguigno: 1. L'asse verticale rappresenta le diverse velocità sottoforma di frequenze delle onde generate dal calcolo della FFT, che rappresenta la differenza tra la frequenza dell'onda ultrasonora incidente e le frequenze delle onde diffuse dagli eritrociti in movimento; 2. L'asse orizzontale rappresenta il tempo trascorso; 3. L'intensità del colore dei singoli punti rappresenta il numero di GR in movimento con quella specifica velocità; 4. Il flusso verso il trasduttore è rappresentato sopra la linea zero, viceversa il flusso in allontanamento al di sotto.

La forma dello spettro varia secondo la compliance del vaso, del ritmo cardiaco e delle resistenze periferiche del territorio a valle (oltre alle innumerevoli condizioni patologiche), e proprio quest'ultima variabile è stata presa in considerazione nella valutazione del muscolo denervato. Si distinguono flussi ad alta e bassa resistenza, cioè flussi pulsanti e continui; i parametri che vengono in genere considerati nelle loro variazioni sono: 1. Lo stacco dello zero flow dalla linea 0, dove per zero flow si considera una linea immaginaria che unisce le basi dei vari picchi e per linea zero la linea

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

che si dovrebbe ottenere durante la registrazione di un vaso con velocità di flusso in pratica nulla; 2. L'area compresa tra lo zero flow e la linea zero rappresenta il flusso continuo, cioè la velocità di flusso che è sempre presente nella sezione di vaso tributario di organi parenchimatosi quali l'encefalo e il rene. È indipendente dal ciclo cardiaco: essa è quasi nulla nei vasi ad alte resistenze al deflusso quali i distretti muscolari; 3. L'area compresa tra lo zero flow e la curva, costituisce il flusso pulsante. Essa rappresenta la velocità di flusso dipendente dalla gittata cardiaca e dalle variazioni in tensione elastica della parete arteriosa [13].

Il flusso è molto pulsante nelle arterie degli arti a causa dell'alta resistenza a riposo e questo si ripercuote sullo spettro che acquisisce la classica forma trifasica: caratterizzata da una ripida salita durante la fase di accelerazione sistolica, seguita da una rapida decelerazione e un significativo reflusso nella proto-diastole, e da una breve fase di flusso in avanti tra la meso-diastole e la tele-diastole. Flusso nullo si vede tipicamente alla fine della diastole. Il flusso sistolico viene in parte riflesso all'indietro dalle alte resistenze, finché è nuovamente diretto in avanti in seguito all'afflusso di sangue per il successivo ciclo cardiaco. Il risultato dell'alta pressione nelle arteriole degli arti è che il flusso sanguigno in questi vasi avviene significativamente solo durante la sistole, quando la pressione sistemica è più alta della pressione periferica; la pressione durante la diastole è troppo bassa perché produca un flusso consistente verso la periferia. Il flusso ad alta resistenza è tipico delle arterie che riforniscono i muscoli e la cute, le arterie degli arti e la carotide esterna.

Risultati e Discussione

Pazienti. Il primo paziente (09rise2-Pd02NB) è affetto da lesione iatrogena unilaterale del nervo sciatico destro conseguente alla rimozione chirurgica di una massa neoplastica in sede ischiatica. Il muscolo Tibiale Anteriore (TA) risponde molto debolmente a correnti di forte intensità e di lunga durata. Il secondo paziente (09rise2-Ud01LS) è affetto da una lesione bilaterale completa del midollo spinale per frattura-dislocazione delle vertebre D12-L1, con completa estensione al midollo distale. Sebbene presenti lievi tremori spastici agli arti inferiori, risponde con una fibrillazione muscolare appena palpabile alla stimolazione massimale con i comuni stimolatori elettrici commerciali per muscolatura normale. Il terzo paziente (09rise2-Pd03BM) è affetto dalle conseguenze di un politraumatismo stradale con frattura della scapola sinistra e lesioni da stiramento del plesso brachiale. Evidente atrofia del m. deltoide sinistro, che risponde soltanto alla stimolazione con correnti di forte intensità e di lunga durata per "muscoli cronicamente denervati".

Ecomiografia funzionale.

Gli spessori muscolari, le caratteristiche ecostrutturali e i filmati delle contrazioni sono stati valutati con immagini ecografiche in modalità B-mode (MyLab25, Esaote, Genova, Italia; Elegra, Siemens, Erlangen, Germany); i filmati, in formato AVI, sono composti da fotogrammi acquisiti ogni 32 msec. È stata utilizzata una sonda lineare da 7.5-Mhz, posizionata perpendicolarmente alla superficie cutanea in posizioni ben precise e predeterminate, specifiche per ogni soggetto, in modo tale da consentire misurazioni standardizzate confrontabili e ripetibili in tempi diversi. Quando possibile, i punti di repere sono fissati sfruttando l'individuazione di vasi perforanti. La sonda è rivestita con gel ecografico per fornire un contatto acustico senza comprimere la superficie cutanea. Le immagini sono ottenute mantenendo gli stessi settaggi (profondità, gain, focus) per permettere il confronto tra immagini acquisite in tempi diversi.

Per la valutazione ecostrutturale sono state preferite le immagini dei piani trasversali dei ventri muscolari, mentre, per evidenziare il movimento di contrazione-rilassamento, la sonda era posta su un piano longitudinale. Dopo aver individuato e posta la sonda sul sito di misurazione, la sonda è stata orientata, ruotandola attorno ai suoi assi, per ottenere lo spessore muscolare minimo visualizzabile in quel punto, altrimenti la misurazione sarebbe stata sovrastimata; per evidenziare meglio la contrazione, l'orientamento ottimale della sonda è quello che permette la visualizzazione dei fascicoli terziari per tutta la loro lunghezza, questa condizione permette di visualizzare il muscolo in un piano longitudinale più preciso. Durante la registrazione della contrazione passiva del muscolo paralizzato, la sonda è stata posta tra i due elettrodi ad ampia superficie cercando di rispettare le condizioni suddette. Per confrontare la contrazione indotta dall'elettrostimolazione del muscolo denervato con quella del controlaterale normale, si devono variare i protocolli di stimolazione, che richiedono nel caso dei muscoli cronicamente denervati ampiezze e durate, che risulterebbero molto dolorose se la sensibilità è conservata: in questo caso si utilizza un tipo di corrente "tradizionale" per muscoli innervati [4,5,8-10].

Con la stessa apparecchiatura ecografica sono stati rilevati i tracciati spettrali di arterie perforanti muscolari. Il decorso superficiale delle arterie esaminate in questo studio, tibiale anteriore e suoi rami perforanti muscolari, ha permesso di utilizzare trasduttori ad alta frequenza. L'acquisizione di una corretta analisi spettrale ha bisogno di un attento allineamento del trasduttore con il decorso del vaso. I vasi sono stati visualizzati nei due piani: in un primo momento i vasi sono stati identificati sul piano trasversale in modalità color-Doppler, per poi porre sul piano longitudinale, in modalità eco-Doppler, il volume campione all'interno degli stessi per eseguire

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

l'analisi spettrale. I tracciati sono stati acquisiti sia a riposo, sia durante e dopo elettrostimolazione del muscolo denervato. Per confrontare le analisi spettrali Doppler rilevate nei muscoli, denervati dopo stimolazione elettrica con quelle dei muscoli innervati controlaterali, i soggetti hanno compiuto una serie di cinque contrazioni volontarie isometriche di 10 sec contro carico sovra massimale.

Il quadro ecostrutturale è quello dei muscoli atrofici coinvolti in patologie neuromuscolari e presenta nel confronto con i muscoli controlaterali innervati: diminuzione dello spessore del TA con aumento diffuso dell'ecogenicità accompagnata a diminuzione dell'eterogeneità dell'ecostruttura; diminuzione degli echi dell'epimisio e dei margini ossei sottostanti. Tra le immagini del primo e dell'ultimo controllo ecografico, si è verificato un netto miglioramento dell'ecostruttura e degli spessori muscolari. La possibilità di visualizzare in tempo reale il movimento muscolare ha permesso l'identificazione di un comportamento anomalo del muscolo denervato in seguito alla stimolazione elettrica. Rispetto al contro laterale normale, il muscolo denervato si rilassa ad una velocità minore, legata sia all'alterazione della capacità della fibra muscolare di controllare l'omeostasi del calcio intracellulare che al modificato rapporto tessuto muscolare:tessuto connettivo (fibrosi relativa e/o assoluta). I tracciati Doppler delle arterie perforanti dei muscoli innervati presentano la tipica forma trifasica delle arterie ad alta resistenza, che diminuisce durante la stimolazione elettrica per effetto della vasodilatazione arteriolare. Nel muscolo denervato, a riposo si rileva un flusso continuo a bassa resistenza, mentre dopo stimolazione elettrica, inaspettatamente, il flusso diventa pulsatile. Questo patognomico comportamento del flusso sanguigno è l'espressione della perdita del controllo vasomotorio e di una microangiopatia nella denervazione a lungo termine [22]. L'ecomiografia è dunque una tecnica elettiva per il monitoraggio dei muscoli denervati, sia permanentemente, sia nell'attesa di un'auspicabile reinnervazione: la strumentazione è facilmente reperibile e le analisi sono economiche e non invasive. In questo studio clinico mostriamo che lo spessore, l'ecostruttura, la cinetica di rilasciamento e le modalità di perfusione dei muscoli sono ripetibilmente valutabili e che possono essere utilizzati come parametri di monitoraggio del h-b FES training.

Sono stati acquisiti i filmati delle contrazioni muscolari indotte dalla stimolazione elettrica in tre pazienti trattati con h-b FES. Nel caso dei pazienti 09rise2-Pd02NB e 09rise2-Ud01LS si sono analizzati i muscoli tibiali anteriori (TA) destro e sinistro. Nel primo caso, trattandosi di una denervazione iatrogena unilaterale del nervo sciatico destro, il muscolo TA sinistro è stato utilizzato come muscolo innervato di controllo. Nel terzo soggetto è stato registrato il movimento di contrazione-rilasciamento dei due deltoidi, il sinistro

denervato e il destro innervato. Nel primo e nel terzo soggetto è stata possibile un'analisi comparativa: il tibiale anteriore e il deltoide denervati hanno dimostrato un comportamento alterato soprattutto nella fase di rilasciamento. Il tempo necessario a completare la fase di rilasciamento è maggiore nel caso del muscolo denervato e questo fatto è già evidente alla visione del filmato senza particolari metodiche d'imaging quantitativa. Con un software di gestione video (Windows Movie Maker, Microsoft Corporation, Redmond Washington D.C.), si è misurata la durata del rilasciamento nelle registrazioni ecografiche B-mode. Il programma consente di esaminare i filmati fotogramma per fotogramma, per cui si riesce a cogliere, con buona approssimazione, l'attimo in cui i fascicoli muscolari terziari terminano le fasi di contrazione e rilasciamento. La stessa valutazione può essere eseguita andando a identificare i fotogrammi che rappresentano, rispettivamente, i momenti di massimo e di minimo ispessimento muscolare. I tempi ottenuti, relativi ai muscoli innervati, si discostano da quelli riportati per le misurazioni della scossa isometrica, mentre si avvicinano ai tempi che si rilevano con metodiche meno fini: un muscolo composto prevalentemente da fibre a contrazione rapida, come il muscolo tibiale anteriore, dovrebbe avere una fase di emi-rilasciamento di circa 50 msec, mentre nelle nostre misurazioni è di circa 200 msec, non molto diversa tuttavia da quella delle contrazioni volontarie. È interessante notare che invece la fase di contrazione, ha valori più vicini a quelli fisiologici. Nonostante la differenza tra tempi ottenuti con metodi diversi, questo procedimento permette il confronto dei tempi di rilasciamento dei muscoli innervati e denervati. Il muscolo tibiale anteriore denervato del soggetto B.N., completa il rilasciamento in circa 800 msec, cioè richiede un tempo quattro volte superiore a quello necessario al muscolo controlaterale innervato. I tempi di rilasciamento e contrazione non variano significativamente durante il periodo di terapia.

Conclusioni

L'ecomiografia, anche se non offre tutte le informazioni della TC o della RM, è la tecnica di imaging migliore per indagare ripetutamente il tessuto muscolare denervato da lesioni dei motoneuroni spinali o degli emergenti nervi periferici. In questo studio dimostriamo che lo spessore, le caratteristiche ecogene, contrattili e di perfusione dei muscoli sottoposti a h-b FES sono ripetibilmente valutabili con l'ecomiografia funzionale e che i risultati possono essere utilizzati nel monitoraggio di questa strategia riabilitativa. In particolare, le analisi ambulatoriali o domiciliari della dinamica della contrazione e della perfusione muscolare con l'eco-Doppler consentono di individuare delle anomalie patognomiche della denervazione muscolare massiva.

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

In conclusione, questo studio conferma l'utilità dell'Ecomiografia Funzionale nel monitoraggio dei muscoli denervati/reinnervati e gli effetti positivi dell'h-b FES sul trofismo e sulla contrattilità muscolare, anche nel caso più arduo di muscoli massivamente denervati.

Corresponding Author

Leonora Martino, MD, Department of Diagnostics and Special Therapy, University of Padova, Via Giustiniani 2, I-35100 Padova, Italy. E-mail: leonora_martino@hotmail.com

References

- [1] Arts IM, van Rooij FG, Overeem S, Pillen S, Janssen HM, Schelhaas HJ, Zwartz MJ. Quantitative muscle ultrasonography in amyotrophic lateral sclerosis. *Ultrasound Med Biol* 2008;34: 354-361. Epub 2007 Oct 26.
- [2] Arts IM, Pillen S, Schelhaas HJ, Overeem S, Zwartz MJ. Normal values for quantitative muscle ultrasonography in adults. *Muscle Nerve* 2010; 41: 32-41.
- [3] Barberie JE, Wong AD, Cooperberg PL, Carson BW. Extended field-of-view sonography in musculoskeletal disorders. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 171: 751-757.
- [4] Bizzarini E, Zampa A, Malisan C, Pinzini C, Di Benedetto P, Kern H, Carraro U. Epidemiology and clinical management of Conus-Cauda Syndrome and flaccid paraplegia in Friuli Venezia Giulia: Data of the Spinal Unit of Udine. *Basic Appl Myol* 2009; 19: 203-167.
- [5] Carraro U, Kern H. Muscle pathology in lower motor neuron paraplegia and h-b FES. *Europ J Translat Myol - Basic Appl Myol* 2010; 20: 25-32.
- [6] Delcker A, Walker F, Caress J, Hunt C, Tegeler C. In vitro measurement of muscle volume with 3-dimensional ultrasound. *Eur J Ultrasound* 1999; 9: 185-190.
- [7] Fischer AQ, Carpenter DW, Hartlage PL, Carroll JE, Stephens S: Muscle imaging in neuromuscular disease using computerized real-time sonography. *Muscle Nerve* 1998; 11: pp 270-275.
- [8] Kern H, Boncompagni S, Rossini K, Mayr W, Fanò G, Zanin ME, Podhorska-Okolow M, Protasi F, Carraro U. Long-term denervation in humans causes degeneration of both contractile and excitation-contraction coupling apparatus that can be reversed by functional electrical stimulation (FES). A role for myofiber regeneration? *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63: 919-931.
- [9] Kern H, Carraro U, Adami N, Biral D, Hofer C, Forstner C, Mödlin M, Vogelauer M, Boncompagni S, Paolini C, Mayr W, Protasi F, Zampieri S. Home-based Functional Electrical Stimulation (h-bFES) recovers permanently denervated muscles in paraplegic patients with complete lower motor neuron lesion. *Neurorehab Neur Rep* 2010, accepted Jan 22, 2010.
- [10] Kern H, Carraro U, Adami N, Biral D, Hofer C, Loeffler S, Vogelauer M, Mayr W, Rupp R, Zampieri S. One year of home-based Functional Electrical Stimulation (FES) in complete lower motor neuron paraplegia: Recovery of tetanic contractility drives the structural improvements of denervated muscle. *Neurol Res* 2010; 32: 5-12.
- [11] Kern H, Hofer C, Mödlin M, Mayr W, Vindigni V, Zampieri S, Boncompagni S, Protasi F, Carraro U. Stable muscle atrophy in long-term paraplegics with complete upper motor neuron lesion from 3- to 20-year SCI. *Spinal Cord*. 2008; 46: 293-304. Epub 2007 Oct 23.
- [12] Kern H, Rossini K, Carraro U, Mayr W, Vogelauer M, Hoellwarth U, Hofer C. Muscle biopsies show that FES of denervated muscles reverses human muscle degeneration from permanent spinal motoneuron lesion. *J Rehabil Res Dev* 2005; 42(Suppl 1): 43-53.
- [13] Liboni W, Pisani R: Considerazioni di emodinamica e significato del rilievo ultrasonoro di flusso. In: *Ecodoppler vascolare*. Rabbia C, De Lucchi R, Cirillo R eds Edizioni Minerva Medica Publ, Torino 1991; pp 41-73.
- [14] Martinoli C, Derchi LE, Pastorino C. Analysis of echotexture of tendons with US. *Radiology* 1993; 186: 839-843.
- [15] Monetti G. Semeiotica della anatomia ecografica. In: *Ecografia muscolo-scheletrica*. Idelson-Gnocchi Publ, Napoli 2000; pp 17-33.
- [16] Narici MV, Binzoni T, Hiltbrand E, Fasel J, Terrier F, Cerretelli P. In vivo human gastrocnemius architecture with changing joint angle at rest and during graded isometric contraction. *J Physiol* 1996; 496(Pt 1): 287-297.
- [17] Peetrons P. Ultrasound of muscle. *Eur Radiol* 2002; 12: 35.
- [18] Pillen S, Tak RO, Zwartz MJ, Lammens MMY, Verrijp KN, Arts IMP, van der Laak JA, Hoogerbrugg PM, van Engelen BGM, Verrips A. Skeletal muscle ultrasound: correlation between fibrous tissue and echo intensity. *Ultrasound Med Biol* Volume 2009; 35: 443-446.
- [19] Pillen S, van Keimpema M, Nievelstein RA,

Echomyography in h-b FES of LMN denervated muscle

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 33-40

- Verrips A, van Kruijsbergen-Raijmann W, Zwarts MJ. Skeletal muscle ultrasonography: Visual versus quantitative evaluation. *Ultrasound Med Biol.* 2006; 32: 1315-1321.
- [20] Reeves ND, Maganaris CN, Narici MV. Ultrasonographic assessment of human skeletal muscle size. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 116-118.
- [21] Rossato E, Marziali A, Carraro U, Zampieri S, Carniel D, Stramare R, Kern H, Masiero S, Ferraro C. Rise2-Italy Project: Muscle FES after peripheral nerve lesion. *Basic Appl Myol* 2009; 19: 169-172.
- [22] Scelsi R, Poggi P. Muscle pathology in upper motor neuron paraplegia. *Europ J Translat Myol - Basic Appl Myol* 2010; 20: 17-24.
- [23] Stramare R, Martino L, Rossato E, Zanato R, Masiero S, Carraro U. Functional Echo Myography (Ultra Sonography) of denervated/reinnervating muscle. *Basic Appl Myol* 2009; 19: 273.
- [24] Walker FO. Normal neuromuscular sonography. In: *Neurosonology.* Mosby-Year-Book Publ, New York 1996; pp 397-405.
- [25] Walker FO, Cartwright MS, Wiesler ER, Caress J. Ultrasound of nerve and muscle. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 495-507.
- [26] Weber MA, Krix M, Delorme S. Quantitative evaluation of muscle perfusion with CEUS and with MR. *Eur Radiol* 2007 Oct;17(10):2663-74. Epub 2007 Apr 24.
- [27] Zamorani MP, Valle N. Muscle and Tendon. In: *Ultrasound of the musculoskeletal system.* Bianchi S, Martinoli C eds Springer Publ, Berlin Heidelberg New York 2007; pp 45-50.
- [28] Zanato R. Ecomiografia funzionale del muscolo denervato: risultati preliminari. M.D. Thesis, University of Padova, Italy. 2009 pp. 1-44.